

**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ**

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**OBSAH AROMATICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V  
NEČOKOLÁDOVÝCH CUKROVINKÁCH**

THE CONTENT OF AROMA ACTIVE COMPOUNDS IN SWEETS

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

BACHELOR'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

Adriena Maňáková

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2017

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1108/2016  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Adriena Maňáková**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie  
Vedoucí práce: **Ing. Eva Vítová, Ph.D.**  
Akademický rok: 2016/17

### Název bakalářské práce:

Obsah aromaticky aktivních látek v nečokoládových cukrovinkách

### Zadání bakalářské práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
  - nečokoládové cukrovinky – charakteristika, složení, vlastnosti
  - technologie výroby
  - aromaticky aktivní látky – charakteristika, rozdělení; aromatické látky v cukrovinkách
  - plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC–MS) – princip, popis, instrumentace
2. Pomocí metody SPME–GC–MS identifikujte aromaticky aktivní látky ve vzorcích nečokoládových cukrovinek
3. Porovnejte aromatický profil jednotlivých vzorků

### Termín odevzdání bakalářské práce: 19.5.2017

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

---

Adriena Maňáková  
student(ka)

---

Ing. Eva Vítová, Ph.D.  
vedoucí práce

---

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně / Purkyňova 464/118 / 612 00 / Brno

---

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Tato bakalářská práce se zabývá stanovením aromaticky aktivních látek v nečokoládových cukrovinkách. V teoretické části je popsána technologie jejich výroby od surovin až po konečný výrobek. Dále jsou charakterizovány aromaticky aktivní látky včetně těch potenciálně alergenních a stručně je popsána metoda jejich stanovení pomocí mikroextrakce pevnou fází a plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií.

Cílem experimentální části byla identifikace těkavých látek a následná kvantifikace 24 potenciálně alergenních aromatických látek pomocí metody HS-SPME-GC/MS. Jako modelové vzorky byly použity želatinové bonbony, zakoupené v běžné tržní síti.

Mezi vzorky byly nalezeny rozdíly v počtu a druhu těkavých sloučenin. Celkem bylo ve vzorcích identifikováno 230 těkavých sloučenin, včetně 8 alergenních; z toho 55 alkoholů, 68 esterů, 29 alkenů, 18 aldehydů, 25 ketonů, 2 ethery, 3 epoxidy, 9 karboxylových kyselin a 21 ostatních sloučenin.

## **ABSTRACT**

This bachelor thesis deals with the assessment of aroma active compounds in non-chocolate confectionery. In the theoretical part the production technology of non-chocolate confectionery from raw materials to final product is described. Furthermore, aroma active substances, including potentially allergenic, are characterized, and the method for their determination by solid phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometry is briefly described.

The aim of the experimental part was identification of volatile substances and subsequent quantification of 24 potentially allergenic aroma substances by the HS-SPME-GC/MS method. Gummy candies, purchased in the regular market, were used as model samples.

The differences in the number and type of volatile compounds were found between the samples. Overall 230 volatile compounds were identified including 8 allergens. These were composed of 55 alcohols, 68 esters, 29 alkenes, 18 aldehydes, 25 ketones, 2 ethers, 3 epoxides, 9 carboxylic acids and 21 other compounds.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

alergeny, vonné látky, nečokoládové cukrovinky, HS-SPME-GC/MS

## **KEYWORDS**

allergens, aroma compounds, non-chocolate confectionery, HS-SPME-GC/MS

MAŇÁKOVÁ, A. *Obsah aromaticky aktivních látek v nečokoládových cukrovinkách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 83 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D..

### PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem citovala správně a úplně. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

---

podpis studenta

### *Poděkování:*

*Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé bakalářské práce Ing. Evě Vítové, Ph.D za odborné vedení, cenné rady, připomínky a ochotu při zpracovávání této práce.*

1	ÚVOD.....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1	Nečokoládové cukrovinky.....	8
2.2	Suroviny pro výrobu nečokoládových cukrovinek .....	9
2.2.1	Sladidla .....	9
2.2.1.1	Přírodní sladidla .....	9
2.2.1.2	Náhradní sladidla .....	10
2.2.2	Jádroviny.....	11
2.2.3	Senzoricky aktivní látky .....	11
2.2.3.1	Aromata .....	11
2.2.3.2	Barviva .....	11
2.2.3.3	Kyseliny.....	12
2.2.4	Želírující látky .....	12
2.2.5	Vosky a laky .....	12
2.2.6	Rostlinné gumy .....	13
2.3	Technologie výroby nečokoládových cukrovinek .....	13
2.3.1	Cukrovinky s nevykrytalizovanými cukry .....	13
2.3.1.1	Kandyty .....	13
2.3.1.2	Karamely.....	13
2.3.1.3	Želé.....	13
2.3.1.4	Gumovité cukrovinky .....	15
2.3.1.5	Šlehané cukrovinky .....	15
2.3.2	Cukrovinky s vykrytalizovanými cukry.....	15
2.3.2.1	Fondán.....	16
2.3.2.2	Komprimáty .....	16
2.3.2.3	Marcipán .....	16
2.3.3	Další druhy cukrovinek .....	17
2.4	Vonné (aromaticky aktivní) látky.....	17
2.4.1	Aromatické látky v pomeranči a jablkách.....	18
2.5	Legislativa vonných látek v oblasti kosmetiky .....	18
2.6	Seznam alergenních vonných látek .....	19
2.7	Použité metody a instrumentální techniky .....	24
2.7.1	Plynová chromatografie.....	24
2.7.2	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-MS) .....	25
2.7.3	Mikroextrakce na tuhou fázi (SPME) .....	25
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	26
3.1	Laboratorní vybavení a chemikálie .....	26

3.1.1	Plyny .....	26
3.1.2	Přístroje.....	26
3.1.3	Pracovní pomůcky.....	26
3.1.4	Chemikálie .....	26
3.2	Analyzované vzorky .....	27
3.3	Metoda HS-SPME-GC/MS .....	29
3.3.1	Podmínky SPME extrakce.....	29
3.3.2	Podmínky GC-MS analýzy .....	29
3.3.3	Vyhodnocení výsledků HS-SPME-GC/MS analýzy.....	29
3.3.3.1	Příprava kalibračních přímk standardů .....	29
3.3.3.2	Identifikace a kvantifikace aromaticky aktivních látek ve vzorcích .....	30
3.4	Statistické zpracování výsledků.....	30
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	31
4.1	Identifikace aromaticky aktivních látek ve vzorcích.....	31
4.1.1	Vzorek A01 .....	32
4.1.2	Vzorek A02 .....	37
4.1.3	Vzorek A03 .....	43
4.1.4	Vzorek A04 .....	49
4.1.5	Vzorek A05 .....	55
4.2	Srovnání identifikovaných sloučenin ve vzorcích od různých výrobců .....	61
4.3	Srovnání identifikovaných sloučenin v obou příchutích.....	61
4.4	Identifikace a kvantifikace alergenních aromaticky aktivních látek ve vzorcích	63
5	ZÁVĚR.....	70
6	SEZNAM CITOVANÝCH ZDROJŮ.....	71
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....	77
8	SEZNAM PŘÍLOH.....	78
9	PŘÍLOHY .....	79

# 1 ÚVOD

Pocit, kdy nás tzv. "honí mlsná" zná snad každý. V dnešní době lze ukojit toto nutkání širokou škálou výrobků. Vzhledem ke zvyšující se spotřebě nečokoládových cukrovinek se zvyšují i nároky na jejich kvalitu a kontrolu aditivních látek, které zlepšují senzorické vlastnosti výrobků, například vůni, chuť, texturu apod.

Mezi tyto aditivní látky patří i látky aromatické, z nichž některé mohou mít negativní vliv na lidský organismus, a sice mohou vyvolávat alergické reakce u některých jedinců. Jedná se o 26 potenciálně alergenních látek, jejichž výskyt a množství v potravinách není dosud v české republice legislativně řízeno. Pouze u kosmetických výrobků jsou dané limity, kdy musí být tyto vonné látky uvedeny na obalu.

Tato práce se v teoretické části zabývá technologií výroby všech známých druhů nečokoládových cukrovinek a také popisem jednotlivých potenciálně alergenních látek, které se v nich mohou vyskytovat. V praktické části budou pomocí metody HS-SPME-GC/MS identifikovány těkavé (aromatické) látky a kvantifikovány potenciálně alergenní aromatické látky ve vybraných vzorcích želé cukrovinek od pěti různých výrobců.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

V teoretické části je shrnuta základní charakteristika nečokoládových cukrovinek, jejich rozdělení a technologie výroby. Dále je v ní shrnuta legislativa, týkající se potenciálně alergenních látek v potravinářství a v kosmetickém průmyslu a také je stručně popsána metoda, pomocí které byly tyto látky stanovovány ve vzorcích.

### 2.1 Nečokoládové cukrovinky

Cukrovinky se dělí podle obsahu kakaových součástí na čokoládové, zahrnující čokolády, a nečokoládové. Čokoládové cukrovinky obsahují více než 5 % kakaových součástí a nečokoládové obsahují méně než 5 % kakaových součástí [1, 2].

K úspěšné výrobě pestré skupiny nečokoládových cukrovinek je potřeba pochopit vliv řady fyzikálně-chemických dějů, které probíhají během technologického procesu a mají vliv na kvalitu výrobku. Na kvalitě a senzorických vlastnostech nečokoládové cukrovinky se nejvíce projevují suroviny, vlastnosti cukerných roztoků při odpařování, chemické reakce probíhající při odpařování, krystalizace sacharózy, hygroskopicitu jednotlivých surovin a hotových výrobků a také sladivost jednotlivých surovin [3].

Nečokoládové cukrovinky lze rozdělit do dvou skupin podle toho, zda mají či nemají vykrytalizovanou sacharózu. To záleží na tzv. varném poměru, což je poměr sacharózy a škrobového sirupu. Mezi představitele nečokoládových cukrovinek s vykrytalizovanou sacharózou patří kandyty, různé druhy želé a karamel. Do skupiny nečokoládových cukrovinek s krystalickou sacharózou patří fondánové výrobky a komprimáty [1,3].

V příloze č. 4 k vyhlášce č. 76/2003 Sb. Zákona o potravinách a tabákových výrobcích je provedeno členění nečokoládových cukrovinek na skupiny a podskupiny (viz tabulka 1).

Tabulka 1.: Členění nečokoládových cukrovinek na skupiny a podskupiny [2]

Druh	Skupina	Podskupina
Nečokoládové cukrovinky	karamely	tukové s jádrovinami, s ovocnou příchutí, mléčné, kakaové a kávové
	nečokoládové dražé	podle druhu vložek, cukrová, želé, jádroviny, sušené ovoce, marcipán a arašídy
	želé	
	sójové pochoutky	
	arašídové pochoutky	
	gumovité	
	rahat	
	chalva	
	turecký med	
	lékořicové cukrovinky	
	pěnové cukrovinky	
	fondánové cukrovinky	
	komprimáty	
	žvýkačky	balonkové, plátkové, dražované



Tabulka 1.: Členění nečokoládových cukrovinek na skupiny a podskupiny [2] – pokračování

Nečokoládové cukrovinky	dropsy	
	roksy	
	furé	s tukovou náplní, s cukernou náplní
	pasty nebo pomazánky	zejména lískooříškové, mandlové, arašídové nebo kokosové

## 2.2 Suroviny pro výrobu nečokoládových cukrovinek

Mezi nejdůležitější suroviny cukrovinkářského průmyslu patří především sacharóza a také některé další cukry, fruktózový a škrobový sirup, med a syntetické náhrady těchto přírodních sladidel. Dále se na výrobu používají polysacharidy a jejich deriváty (škrob, pektin, agar apod.), suroviny obsahující bílkoviny (želatina, sušené mléko, sójová mouka), jádroviny a ovocné produkty, rostlinné gumy, tuky, emulgátory a další aditiva, jako například aroma, barviva, vosky a laky [1,4].

### 2.2.1 Sladidla

Sladidla jsou látky, které potravině dodávají především sladkou chuť. Některá sladidla navíc obohacují potravinu i o další senzorycké vlastnosti (barvu a vůni), zvyšují její energetickou hodnotu a při zvýšených dávkách i mikrobiální stabilitu [4].

Sladidla můžeme rozdělit na sladidla přírodní a náhradní, která se dále dělí na sladidla syntetická a cukerné alkoholy [1].

#### 2.2.1.1 Přírodní sladidla

Jako nejběžnější přírodní sladidlo se při výrobě cukrovinek používá sacharóza, tedy cukr, dále pak invertní cukr, škrobové a fruktózové sirupy, med a volné monosacharidy glukóza a fruktóza. Zdrojem sacharózy v České republice je cukerná řepa, ve světě je to především cukrová třtina, ale také datlovník, javor cukrodárný a různé druhy palem [1,4].

Senzoryckou funkcí cukru není jen dosažení sladkého vjemu, ale současně i docílení pocitu chuťové plnosti. To je jeden z důvodů, proč se obvykle nedosahuje rovnocenné chuťové náhrady při použití náhradních sladidel namísto cukru. V cukrárenské výrobě má sacharóza svůj nezastupitelný význam také proto, že při pečení většiny těst a hmot karamelizuje, čímž zpevňuje ostatní složky; má konzervační účinky (zvýšení mikrobiální stability) a zejména protože vytváří při pečení s jinými složkami (především s bílkovinami a tuky) cenné barevné, aromatické a chuťové látky (Maillardova reakce) [1, 4].

Používání glycidů (cukrů, sacharidů) je ale ze zdravotního hlediska vyloučeno u osob trpících cukrovkou. Toto onemocnění se projevuje poruchou metabolismu sacharidů, především glukózy. Glukóza se špatně vstřebává ze střeva, těžko se zpracovává na zásobní látku glykogen a nedokonalé se ve tkáních zužitkuje. Neléčený diabetik má proto zvýšenou hladinu cukru v krvi a jeho organismus si vytváří glykogen z tuků a bílkovin, čímž dochází ke vzniku vedlejších látek, které tělo otravují. Léčení cukrovky je zaměřeno na dodržování diety, omezující příjem sacharidů, na konzumaci potravin obsahujících náhradní sladidla a také samozřejmě na odborné léčení [4,5].

### 2.2.1.2 Náhradní sladidla

Náhradní sladidla jsou látky, které udělují potravinám sladkou chuť, ale nepatří mezi monosacharidy a disacharidy. Za náhradní sladidla se nepovažují potraviny se sladkou chutí – např. fruktóza a med. Podle původu lze náhradní sladidla klasifikovat na přírodní (thaumatin), syntetická identická s přírodními (cukerné alkoholy) a syntetická (acesulfam K, sacharin, aspartam apod.) [6, 7].

Cukerné alkoholy se používají pro výrobu diabetických cukrovinek, cukrovinek se sníženou energetickou hodnotou a cukrovinek, které nezpůsobují kazivost zubů.

Výhodou roztoků cukerných alkoholů pro technologii výroby cukrovinek je jejich vyšší bod varu a také fakt, že nepodléhají Maillardově reakci. Avšak mají ve srovnání se sacharózou nižší sladivost a při vyšších dávkách způsobují zažívací potíže. Vlastnosti a použití cukerných alkoholů jsou shrnuty v Tabulce 2 [1].

Syntetická sladidla jsou sladidla, která jsou vyrobena chemicky, mají nepatrnou energetickou hodnotu, ale vyvolávají pocit sladkosti. Vlastnosti a použití syntetických sladidel jsou shrnuty v Tabulce 3 [8].

Tabulka 2.: Vlastnosti cukerných alkoholů [1, 4, 9, 10].

Sladidlo	E kód	Vlastnosti a použití
Xylitol	E 967	Má přibližně stejnou sladivost jako sacharóza, ale vzhledem k vysokému rozpouštěcímu teplu bývá xylitol používán ve žvýkačkách, zdravotních cukrovinkách a zubních pastách (antibakteriální vlastnosti).
Sorbitol	E 420	Má nižší sladivost a vyšší rozpouštěcí teplo než sacharóza. Používá se při výrobě zubních past, léků, diabetického pečiva, cukrovinek, konzervářských výrobků.
Maltitol	E 965	Je kvalitní náhradou sacharózy z hlediska fyzikálních i chemických vlastností. Používá se převážně k výrobě kandytů, ale nachází své využití i v jiných cukrovinkách, zmrzlinách, žvýkačkách a také ve farmacii.
Laktitol	E 966	Má nižší sladivost než sacharóza. Používá se k výrobě bonbónů, diabetické mléčné čokolády, zmrzliny, sušenek a také ve farmacii (projímadla).
Izomalt	E 953	Má nižší sladivost než sacharóza, ale chuťná podobně. Výrobky mají nízkou hygroskopicitu, což prodlužuje dobu skladovatelnosti. Používá se k výrobě kandytů a cukrovinek se sníženou energetickou hodnotou.

Tabulka 3.: Vlastnosti syntetických sladidel [1, 4, 9]

Sladidlo	E kód	Vlastnosti a použití
Acesulfam K	E 950	Je přibližně 200× sladší než sacharóza a je vysoce stabilní. Používá se při výrobě cukrovinek, pečiva anebo pastilek proti kašli.

Tabulka 4.: Vlastnosti syntetických sladidel [1, 4, 9] – pokračování

Aspartam	E 951	Je přibližně 180–200× sladší než sacharóza a je nestálý při nižším pH a vyšších teplotách (nevhodný pro tepelnou úpravu).
Sacharin	E 954	Je přibližně 300× sladší než sacharóza, dobře rozpustný ve vodě a termostabilní. Jeho nevýhodou je nahořklá chuť, kterou lze ale maskovat jinými sladidly (laktózou, Aspartamem). Využívá se při výrobě zubních past a v mnoha výrobcích potravinářského průmyslu.

### 2.2.2 Jádroviny

Jádroviny jsou plody různých druhů stromů (ořešáků, mandloně, palmy kokosové), keřů (lísky), případně jiných rostlin, jejichž plody zbavené oplodí (skořápky), vláken a stopek jsou semena – jádra [4].

Ořechy mají menší obsah vody a vyšší energetickou hodnotu danou vysokým obsahem tuků a bílkovin. Přítomnost tuků ale omezuje jejich skladovatelnost, jelikož působením vzduchu a světla dochází k různým nežádoucím reakcím jako například ke žluknutí tuků [1, 4].

Jádroviny se používají buď jako základní suroviny při výrobě některých cukrovinkářských hmot (nugát, marcipán aj.), jako chuťové přísady (oříšková čokoláda) nebo jako materiál ke zdobení [1].

Jádroviny lze rozdělit podle místa původu na jádroviny domácí (vlašské ořechy, lískové ořechy) a na jádroviny importované (mandle, pistácie, arašidy, kokos, para ořechy) [1, 4].

### 2.2.3 Senzoricky aktivní látky

Kromě výše zmíněných náhradních sladidel se při výrobě nečokoládových cukrovinek používá řada dalších přídatných látek (aditiv).

Senzoricky aktivní látky zásadně ovlivňují druh a množství konzumované potravy a také její využitelnost. Jsou to látky, které vnímáme pomocí smyslů a patří mezi ně především aroma a barviva [11].

#### 2.2.3.1 Aromata

Aromata jsou látky, které se vyrábějí a používají především pro své organoleptické vlastnosti, tj. schopnosti působit na smyslové orgány (především čich a chuť). Z hlediska původu v nich obsažených aromatických látek se aroma dělí na přírodní, přírodní uměle zesílená a umělá [1, 11, 12].

Vůně potravin je velmi často komplexním vjemem vyvolaným velkým počtem vonných látek. Celkový počet vonných látek identifikovaných v potravinách se odhaduje na téměř 10000. Běžně se v potravinách vyskytuje několik set různých vonných sloučenin [11].

#### 2.2.3.2 Barviva

Barviva jsou látky, které udělují potravině barvu, kterou by sama o sobě neměla anebo obnovují barvu, která byla poškozena nebo zeslabena během výrobního procesu. Potravina tím získá lákavější vzhled [6].

Barva potravin je velice důležitá vlastnost, protože utváří první dojem u spotřebitele, stejně jako to, že určitý typ potravin má spotřebitel spojen s určitou barvou [7].

Barviva lze rozdělit do dvou skupin na barviva přírodní, včetně barviv přírodně identických, a barviva syntetická [7].

Přírodní barviva jsou získávána především z přírodních zdrojů: rostlinných, živočišných i nerostných. Mezi přírodní barviva patří například anthokyaniny, karoteny, chlorofyly a chlorofyliny, betalainy, riboflaviny a karamel. Přírodně identická barviva jsou po chemické stránce stejná jako přírodní, jsou však vyráběna synteticky [6].

Syntetická barviva se získávají z vysoce přečištěných ropných produktů a musí obsahovat minimálně 85 % čistého barviva, zbytek tvoří nečistoty ve formě anorganických solí, sloučenin kovů a organických látek. Syntetická barviva mají obecně intenzivnější barvu než barviva přírodní, mají stálý odstín barvy a nevnašejí do barvené potravin charakteristické vůně a chuti. Avšak se syntetickými barvivy jsou spojovány různé nežádoucí účinky, často se jedná o dětskou hyperaktivitu (nejčastěji žluté barvivo tartrazin, ale také chinolinová žluť, azorubín, ponceau 4R, žluť SY aj.) [6, 7, 11, 13].

### **2.2.3.3 Kyseliny**

Kyseliny jsou látky, které zvyšují kyselost potravin nebo potravině udělují kyselou chuť. Při výrobě cukrovinek se používají kyselina citrónová, mléčná, vinná a maleinová. Zvyšováním kyselosti se buď zvyšuje odolnost potravin vůči mikroorganismům, nebo se omezuje průběh nežádoucích chemických reakcí nebo se naopak vytvářejí podmínky pro průběh potřebných chemických reakcí [1, 6].

### **2.2.4 Želírující látky**

Želírující látky jsou látky, které vytváří gel (rosol) a udělují tím potravině její texturu. Nejznámější želírující látkou je želatina. Želatina je částečně hydrolyzovaný kolagen, který se získává z kravských a vepřových kůží nebo z kravských kostí. Potravinářská želatina je bezbarvá, bez zápachu a bez chuti, bobtná ve studené vodě, rozpouští se za horka a chladnutím vytváří gel [1, 6, 7].

Další želírující látkou je polysacharid agar, který se nalézá v buněčných stěnách některých druhů řas. Ve studené vodě je nerozpustný a v horké vodě vytváří koloidní roztok, který tuhne jako gel při 30 až 40°C [1, 4].

Želírujícím polysacharidem je také pektin, který je obsažen v buněčných stěnách rostlin a je získáván převážně kyselou extrakcí z citrusových plodů nebo jablek. Větší množství pektinu je také obsaženo ve slívách, rybízu, angreštu, brusinkách, ale také v některé zelenině jako například v rajčatech a mrkvi [1, 11].

### **2.2.5 Vosky a laky**

Vosky jsou většinou tvrdé nemastící materiály, nerozpustné ve vodě a špatně rozpustné v organických rozpouštědlech. Používají se především jako základní složky leštidel při výrobě dražé. Mezi živočišné vosky patří vosk včelí, který se používá při výrobě cukrovinek. Z rostlinných vosků je nejdůležitější vosk karnaubský (získávaný z povrchů listů palmy voskové), dále například vosk kandelilla a šelak [1, 11].

Laky se používají především jako ochranná vrstva pro dražé, někdy u čokoládových figurek. Používají se výhradně ethanolické roztoky, v nichž jsou rozpuštěny vosky sandarak, benzoe nebo šelak [1].

## 2.2.6 Rostlinné gummy

Rostlinné gummy jsou získávány jako šťávy vytékající z rostlin při jejich poranění nebo z mořských řas nebo jsou vyráběné různými mikroorganismy. Jejich technologickou funkcí je schopnost zvyšovat viskozitu a vytvářet gely [6].

## 2.3 Technologie výroby nečokoládových cukrovinek

Základem výroby nečokoládových cukrovinek je příprava roztoku nebo suspenze sacharózy a škrobového sirupu ve vodě. Při teplotách odpařování těchto roztoků (což jsou teploty nad 110 °C) podléhají přítomné sacharidy inverzi, karamelizaci a Maillardově reakci. Proto je žádoucí co nejkratší zahřívání při vyšších teplotách. Jestliže dochází k zahřívání za sníženého tlaku, klesá bod varu. V první fázi probíhá odpařování za atmosférického tlaku a poté až za sníženého tlaku, a protože klesá bod varu, hmota vře a dochází k odpařování bez dalšího ohřevu [1].

Jak již bylo zmíněno, cukrovinky lze rozdělit do dvou skupin: s vykrytalizovanou příp. nevykrytalizovanou sacharózou.

### 2.3.1 Cukrovinky s nevykrytalizovanými cukry

Cukrovinky, které obsahují nevykrytalizované cukry, mají vysoký obsah cukrů a relativně nízký obsah vlhkosti [2].

#### 2.3.1.1 Kandyty

Kandyty jsou tvrdé a sklovité cukrovinky nejrůznějších tvarů, různě zbarvené a ochucené, bez náplně i s náplní. Základem jejich výroby je kandytová hmota, která vzniká zahříváním roztoku obsahujícího maximálně 20% vody a sacharózu se škrobovým sirupem v poměru 100:50. Škrobový sirup zvyšuje celkovou sušinu a také působí jako antikrytalizátor [1, 2].

Kandytový roztok se zahušťuje do té doby, dokud kandytová hmota neobsahuje maximálně 30 % vlhkosti. Uvařená kandytová hmota se za tepla barví a ochucuje a poté se z ní vyrábí drosy, furé, roky a benáty [1,2].

#### 2.3.1.2 Karamely

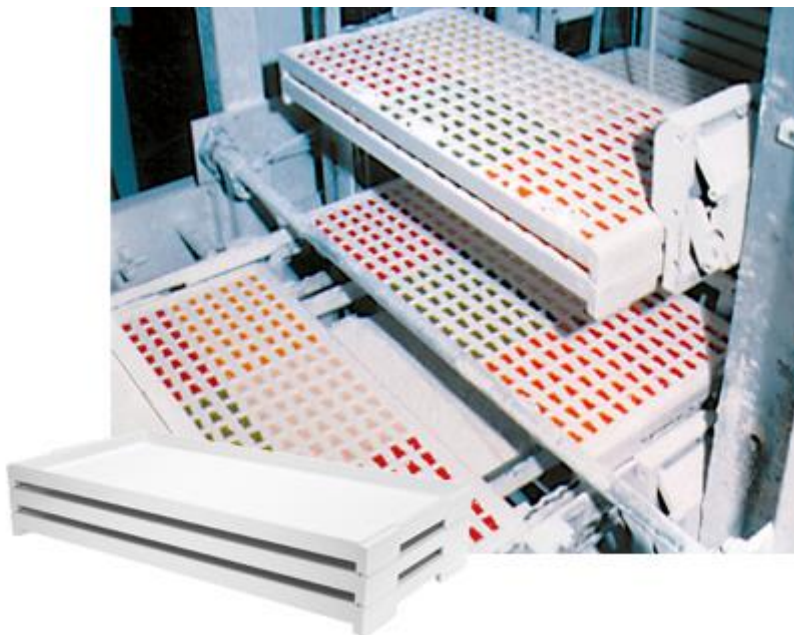
Karamely jsou cukrovinky měkčí konzistence, pro které je charakteristická jejich elasticita. Kromě sacharózy a škrobového sirupu se při jejich výrobě používá mléko, máslo anebo ztužený tuk a mnoho dalších surovin, proto mají také matnější vzhled. Obsah vody je u těchto cukrovinek vyšší – 4 až 7 % a vyšší je také varný poměr 100:100 [1, 2].

Rozvařením cukru s mlékem a tukem vzniká karamelová hmota, která za stálého míchání v přítomnosti emulgátoru vytvoří homogenní emulzi, ke které se přidá škrobový sirup a před skončením varu také barviva a chuťové látky. Hotová karamelová hmota se poté chladí na válcích a ještě v plastickém stavu se tvaruje do nekonečného pásu, který je podélně a potom příčně krájen na příslušné tvary [1, 2].

#### 2.3.1.3 Želé

Želé jsou cukrovinky s konzistencí tuhého gelu, které se vyrábí ze sacharózy, škrobového sirupu a za přídavku želírujících látek, které jsou schopny za určitých podmínek vytvářet pevné gely. Je-li jako želírující látka použita ovocná dřevina nebo šťáva, potom se výrobek nazývá jako ovocné želé. Ostatní výrobky, u kterých se jako želírující látka používá agar, želatina, pektin nebo škrob jsou ochucené a nazývají se želé s ovocnou příchutí [1, 2].

**Pektinové želé** je nejjemnější želé, avšak jeho výroba je velmi náročná a je nutno přesně dodržovat všechny podmínky receptury i technologického postupu. Okyselené pektinové želé totiž velmi rychle tuhne, což ztěžuje formování. K částečné regulaci tuhnutí se používá regulátorů, nejčastěji citronan nebo octan sodný. Práškový pektin se před rozpuštěním ve vodě smíchá se sacharózou, které nesmí být v roztoku víc jak 20 %, protože v koncentrovaných roztocích se pektin špatně rozpouští. Po dokonalém rozpuštění se za varu přidává škrobový sirup a část celkového množství kyseliny. Po krátkém odpařování se za varu přidá zbytek sacharózy a roztok je odpařován do té doby, dokud není obsah sušiny mezi 75 až 79 %. Po částečném ochlazení se přidá zbytek kyseliny a hmota musí být ihned nalévána do škrobových forem (Obr. 1) [1, 2].



Obrázek 1.: Škrobové formy [14]

**Želatinové želé** se vyrábí smíšením cukrového a želatinového roztoku, chladnutím a tvarováním. Cukerný roztok se připravuje ze sacharózy a škrobového sirupu v poměru 2:1 až 1:1. Cukerný roztok se odpaří na teplotu bodu varu 113 až 121°C. Po ochlazení na teplotu 100°C se smíchá s roztokem želatiny, který se připraví rozpuštěním želatiny v teplé vodě o teplotě 54 až 60°C za neustálého promíchávání. Cukerný roztok je pozvolna naléván do roztoku želatiny, aby nedošlo k prudkému zvýšení teploty želatinového roztoku. Izoelektrická teplota želatiny je při pH 4,8, proto se želatinový gel okyseluje na pH 3,8, nejčastěji kyselinou citrónovou. Různé tvary cukrovinek se získávají převážně litím do škrobových forem [1, 2, 15].

**Tradiční škrobové želé** je rahat, který patří mezi orientální cukrovinky. K jeho výrobě se používá škrobů "řídce vařivých" se sníženou viskozitou a zvýšenou tekutostí. Pro snadnější rozmíchání ostatních surovin je vhodná nižší viskozita škrobových mazů. Kvalitní škrobové želé se vyrábí ze škrobů modifikovaných, řídce vařivých, odtučněných kukuřičných nebo pšeničných, ale především ze škrobů s vysokým obsahem amylózy. Suspenze sacharózy, škrobového sirupu a škrobu ve vodě je zahřívána a tím dochází k bobtnání zrn, která absorbují vodu. Po rozpadu škrobového zrna vzniká roztok, ve kterém se během následného ochlazení vytváří vazby mezi molekulami škrobu a tím dochází ke tvorbě gelu. Želé vyrobené ze škrobových roztoků se snadno nalévá do škrobových forem [1].

**Agarové želé** se vyrábí smíšením roztoku agaru, který vznikl namočením agaru ve vodě a jeho následujícím rozvařením (agar se rozpouští při teplotě 90°C v nadbytku vody 1:30), se

sacharózou, směs se rychle zahřeje na 106°C. Poté se přidá škrobový sirup a směs se ihned ochladí na 60°C. Při této teplotě se přidá kyselina, barviva a aromatické látky a ochucená hmota se formuje [2].

#### **2.3.1.4 Gumovité cukrovinky**

Při výrobě gumovitých cukrovinek se kromě sacharózy a škrobového sirupu používají i látky, které poskytují cukrovinkám gumovitou konzistenci, a to především arabská guma, želatina nebo směs k-karragenanu s pektinem [1, 2].

Pracovní postup je stejný jako při výrobě želé, liší se ale teplotou sváření, která je v tomto případě okolo 121 až 136°C. K udržení vláčnosti gumových cukrovinek se přidává glycerin a pro zvýšení jejich "žvýkatelnosti" například sorbitol. Obarvená a ochucená hmota se nalévá do škrobových forem a po dobu 10 až 12 hodin se nechává tuhnout při teplotě okolního prostředí, načež se teplota postupně zvyšuje na 43 až 46°C. Doba sušení je závislá na požadované konzistenci konečné cukrovinky. Nakonec se cukrovinky obalují jemným krystalovým cukrem, leští olejem nebo sandarakem rozpuštěným v ethanolu apod. [1, 2].

Do tohoto odvětví cukrovinek patří také výroba žvýkaček, při jejichž výrobě se používá jako základní surovina báze, která udělí výrobku žvýkavý charakter. Původně se používalo k výrobě žvýkaček přírodních surovin (chicle gum, yelutong, atd.). Se zvyšující se poptávkou po žvýkací gumě bylo nutno tyto přírodní suroviny nahradit syntetickými, a sice polyvinylesterem, polyisobutylenem nebo polyvinylacetátem. Báze obsahuje také glycerol (stabilizátor), arabskou gumu nebo methylcelulózu jako zahušťovadlo, emulgátor (nejčastěji lecithin) a antioxidanty. Při výrobě žvýkací gumy se cukrosirupový roztok s vysokým obsahem sušiny smíchává s roztavenou bází. Do této směsi se přidávají také aromatické látky, nejčastěji éterické oleje (pepermintový, pomerančový, citrónový, skořicový atd.). Sacharóza bývá u žvýkaček, které zamezují kazivosti zubů, nahrazována cukernými alkoholy (xylitol, sorbitol, mannitol) a sladká chuť bývá upravena syntetickými sladidly (např. aspartamem) [1, 2].

#### **2.3.1.5 Šlehané cukrovinky**

Ke šlehaným cukrovinkám se řadí celá řada výrobků, jejichž základní hmotu tvoří pěna, vznikající šlehaním cukerného roztoku za přídavku pěnотvorného činidla. Pěna má za účel cukrovinku zlehčit, snížit její měrnou hmotnost a zvýšit objem nebo zlepšit její strukturu, vytvořit porézní hmotu, která by se v ústech rozplývala. Jako pěnотvorné činidlo se používají látky bílkovinné povahy. V cukrovinkářské praxi se šlehá roztok pěnотvorného činidla s přídavkem malého množství cukru nebo škrobového sirupu a pěnivý objem je potom závislý na těchto faktorech: době a rychlosti šlehání, koncentraci cukru, druhu a koncentraci pěnотvorného činidla a na teplotě [1].

Výroba probíhá dvojím způsobem, jednostupňovým nebo dvojstupňovým. U jednostupňového postupu se všechny nebo téměř všechny suroviny v rozpuštěném stavu šlehají společně. Tímto způsobem se vyrábí hmoty s poměrně vysokým obsahem vody (25 až 35 %), jako je např. maršmalou. U dvojstupňového způsobu se nejprve ušlehá tuhá pěna, do které se za tepla vmíchává roztok ostatních surovin, tzv. násada [1].

#### **2.3.2 Cukrovinky s vykrystalizovanými cukry**

Krystalické cukrovinky mají velmi jemnou krystalickou strukturu, podle které získal svůj název i nejtypičtější zástupce této skupiny, a sice fondán (z francouzského sucre fondant – rozplývající se na jazyku) [2].



### **2.3.2.1 Fondán**

Fondán je cukrářský polotovár, který zaznamenal značný vývoj, a tím se velmi rozšířily možnosti jeho využití v cukrářské výrobě. Dělí se na více druhů, a sice na fondán určený k máčení potravin, fondán určený k potahování cukrářských výrobků a na fondán cukrovinkářský, který je používán k výrobě cukrovinek [16].

Fondán je disperzí nepatrných krystalů sacharózy v nasyceném cukerném roztoku. Základní suroviny jsou sacharóza (65 až 80 %), škrobový sirup (10 až 20 %) a voda (9 až 14 %). Velikost krystalků kvalitního fondánu se pohybuje v rozmezí 5 až 20  $\mu\text{m}$ , přičemž hlavní počet krystalů má velikost mezi 12 až 17  $\mu\text{m}$ . Rozsah velikosti krystalů sacharózy ve fondánu je velmi důležitý během skladování, protože při kolísání teplot při zahřívání fondánu se krystalky rozpouštějí a zmenšují. Rozpouštěcí rychlost je přímo úměrná jejich povrchu. Při zahřívání se malé krystalky rozpouštějí rychleji a úplně, naopak při ochlazování rostou jen existující a nové se netvoří [1, 2].

Výroba fondánové hmoty začíná přípravou fondánového roztoku, který se získá rozpuštěním sacharózy a smícháním se škrobovým sirupem v poměru 100:15 až 20 (podle konečného výrobku) a následným vařením při teplotě 120°C. Poté je přesycený roztok veden do chlazeného válce s dvojchodým šnekem, čímž je vyvoláno tabulování, jehož funkcí je zabránění zpětné krystalizaci cukerného roztoku. Po tabulování hmota vstupuje do temperovaného válce, ve kterém probíhá smíchání hmoty s příměsemi, jako jsou barviva, aroma, kyseliny nebo frapé. Tato fondánová hmota se plní do přepravních nádob a používá se jako náplň do cukrovinek nebo se z ní připravují vložky do máčených cukrovinek, které se tvarují litím do škrobových forem [1, 2, 16].

Jako povrchová úprava se u fondánových cukrovinek používá mokré kandýrování, jehož principem je namočení fondánových vložek do přesyceného roztoku sacharózy, která na povrchu vykrytalizuje a vytvoří tenkou vrstvu, která zároveň slouží jako konzervační prostředek, ale má také zkrášlující funkci (dodává třpytivý lesk) [1].

### **2.3.2.2 Komprimáty**

Komprimáty jsou cukrovinky vyráběné lisováním ochucených a obarvených práškovitých směsí do tablet. Hlavní surovinou při jejich výrobě je převážně sacharóza, ale při výrobě tzv. zdravotních komprimátů se nahrazuje glukózou. Cukr by měl mít pokud možno nejjemnější granulaci, která nejde provést u samotného obarveného a ochuceného cukru, ale u cukru smíchaného s látkami, které zvyšují pojivost směsi, zabraňují lepení směsi na razidla lisů a zvyšují sypkost směsi [1, 2].

Jako mazací látka, která má snižovat lepivost směsi a zabránit opotřebení matric a razníků lisovacích strojů, se používá kakaové máslo, stearan hlinitý aj. Jako pojidlo se nejčastěji používá škrobový sirup, roztok želatiny, arabské gumy nebo pektin [1, 2].

Cukr se smíchá s pojidlem a mazadlem, příp. barvivem a poté následuje granulace, při které se odstraní velmi velký podíl prachových a jemných částic a získá se sypká směs. Připravená granulovaná směs obsahuje 3 % vody, ale konečný výrobek by neměl obsahovat víc jak 0,5 %, proto je nutno hmotu vysušit. Sušená hmota se aromatizuje a okyseluje a poté se lisuje na tablety pomocí rotačních lisů, které svírají materiál horním i dolním razníkem [1, 2].

### **2.3.2.3 Marcipán**

Marcipán je cukrovinka, která se vyrábí z loupaných sladkých mandlí a ze sacharózy, příp. za přídavku škrobového sirupu. Marcipán je homogenní a velmi viskózní hmota s měkkou nebo jen mírně drobivou konzistencí [1, 2].



Mandle se namáčí ve vodě o teplotě 60°C po dobu cca 20 minut, aby se lépe uvolnily slupky. Slupky jsou poté z mokrých mandlí odstraněny na loupacích strojích s pogumovanými válci. Oloupané mandle se nahrubo rozdrtí a smíchají se s cukrem, poté se hmota zjemňuje válcováním na válcích s drsným povrchem. Mandlové částice zůstávají větší než částice cukerné, což má za následek převažující mandlové aroma [1, 2].

Přebytečné vlhkosti se mandlová hmota zbavuje restováním (hmota je zahřívána na teplotu 85 až 92°C), hmota sníží obsah vody o 5 až 6 %, čímž dosáhne správné konzistence. V této fázi se hmota smíchá s práškovým cukrem (resp. škrobovým sirupem), do kterého se přidávají barviva a aromatické látky, někdy také konzervační činidla. Marcipán se formuje různým způsobem a je oblíbenou vložkou při výrobě čokoládových dezertů [1, 2].

### 2.3.3 Další druhy cukrovinek

**Likérové cukrovinky** jsou výrobky, které obsahují uvnitř cukerné nebo někdy čokoládové skořápky cukerný roztok, ochucený pravou lihovinou nebo pouze alkoholem s příslušnou trestí. Tyto cukrovinky se povrchově upravují máčením, dražováním nebo kandýrováním cukerných skořápek. Ochucený cukerný roztok tzv. likér se nalévá nalévajícím strojem do škrobových forem, přičemž dochází k ochlazení roztoku a zároveň ke vzniku krystalické krusty [1].

**Lékořicové cukrovinky** jsou cukrovinky, jejichž charakteristickou složkou je výtažek z kořenů lékořice. Nejvýraznější složkou lékořice je glycyrrhizin, který je velmi sladký a mírní dráždivost ke kašli. Při výrobě lékořicových cukrovinek se používá bohatá směs surovin, ke kterým patří například mouka, melasa, škrobový sirup, želatina, karborafin jako barvivo a případně se dále aromatizují. Technologické postupy se u jednotlivých druhů lékořicových cukrovinek značně liší. Ve všech případech se však nejprve připraví za studena suspenze mouky, která se potom svařuje s ostatními cukrovinkami [1].

**Nugáty**, tzv. masné nebo třené, jsou jemně třené tukové hmoty, obsahující především cukr, tuk a pražené mandle nebo oříšky, které mohou být nahrazeny vlašskými ořechy, sójou, podzemnicí olejnou apod. Rozdrcená pražená jádra se smíchají s cukrem, příp. s dalšími surovinami a směs se zjemňuje nejprve v mlýnech a potom ve válcových stolicích. Poté se hmota zjemňuje konšováním. Takto získaná hmota má velmi měkkou konzistenci, proto se zahušťuje přidávkou kakaového másla. Nugátová hmota se zahřívá, čímž se stává polotekutou a poté se tvaruje podobným způsobem jako karamelová hmota, to znamená, že se chladí na válcích a tvaruje do nekonečného koberce, který se podélně a potom příčně krájí [1, 2].

**Griliáš** je výrobek z karamelizovaného cukru a pražených, loupaných a drcených oříšků, mandlí nebo vlašských ořechů. Jsou dva typy griliáše, tvrdý a měkký, u tvrdého se cukr taví za sucha a u měkkého je navíc obsaženo mléko, marcipán apod. [1, 2].

**Dražé** jsou cukrovinky obličej, většinou drobnějších tvarů, které se vytvářejí nanášením cukerné nebo čokoládové vrstvy na rozmanité vložky. Tento proces je nazýván dražováním, jde o nanášení obalových vrstev během převalování v rotujícím bubnu. Roztok nebo hmota vytvářející polevu po vysušení či ochlazení vytvářejí pevný povlak, který se rovnoměrně rozptýluje na jednotlivé vložky jejich převalováním a vzájemným otíráním. Dražé je možno rozdělit do tří hlavních skupin a to na dražé tvrdé, měkké a dražé s čokoládovou polevou.

## 2.4 Vonné (aromaticky aktivní) látky

Vzhledem k zaměření experimentální části této práce je v následujících kapitolách uvedena charakteristika a možnosti stanovení vonných (aromaticky aktivních) látek (AAL). Hlavní pozornost je věnována vybraným potenciálně alergenním vonným látkám.

Vonné látky jsou látky, které působí na čichové receptory a vyvolávají dojem vůně. Zároveň mohou působit na chuťové receptory, a jsou potom zároveň chuťovými látkami. Vůně potravin je velmi často komplexním vjemem vyvolaným velkým počtem vonných látek. Typickým příkladem je vůně pomerančů nebo pražené kávy, která je výsledným vjemem asi dvou desítek různých sloučenin. Pouze ve výjimečných případech lze typickou vůni potravin spojit s vůní jediné nebo několika málo sloučenin, tzv. klíčových složek vůně [11].

V dnešní době je řada potravin aromatizována, jedná se zvláště o cukrovinky, limonády, alkoholické nápoje, čaje a mnoho dalších. Vonné látky se přidávají nejen pro vylepšení sensorických vlastností, ale mohou zde sloužit i jako náhražka dražších přírodních komponent [17].

Přírodní aroma se nejčastěji vyrábí ze silic, olejopryskyřic, výluhů, ovocných a zeleninových šťáv a dření a destilátů. Téměř všechny přírodní aromaticky aktivní látky, i chemicky jednotné, jsou dražší než stejné avšak synteticky vyrobené látky [18].

Vonné látky a jejich směsi vykazují na lidský organismus řadu blahodárných účinků, pro něž našly použití jako léčiva, složky farmaceutických výrobků nebo již zmiňovaná potravinářská aditiva, avšak některé z nich mohou být také silně alergenní, tj. mohou u citlivých jedinců způsobit alergickou reakci [18, 19].

#### 2.4.1 Aromatické látky v pomeranči a jablkách

Jelikož v této práci byly analyzovány vzorky želé cukrovinek pomerančových a jablečných příchutí, jsou dále uvedeny běžně se vyskytující aromatické látky v těchto dvou druzích ovoce.

Vůně **pomerančů** je tvořena řadou složek. Odlišná vůně pomerančů a grapefruitů je způsobena přítomností (+)-valencenu. Dále tvoří pomerančovou vůni několik aldehydů (např. oktanal, nonanal, citral, vanilín), ketonů (např. pent-1-en-3-on,  $\beta$ -jonon), ethylesterů (např. ethylpropanoát, ethyl-2-methylpropanoát) a alkoholů (např. (-)-terpinen-4-ol, (+)- $\alpha$ -terpineol). Důležitými složkami jsou i uhlovodíky  $\beta$ -karyofyllen, který má kořenovou vůni,  $\alpha$ -pinen a myrcen [11].

Aroma **jablek** je tvořeno více než 300 sloučeninami, z nichž nejdůležitějšími složkami jsou  $C_5$  kyseliny, alkoholy a estery. Z kyselin je významná 2-methylmásečná a 3-methylmásečná kyselina. Klíčovou složkou jablek je ethyl-2-methylbutanoát, přítomny jsou ale i další butyráty a acetáty (např. butylacetát, 2-methylbutylacetát, ethylbutanoát). Nositeli zeleného aroma jablek jsou hexanal, (2E)-hex-2-enal, (3Z)-hex-3-en-1-ol, (2E)-hex-2-en-1-ol a odvozené estery. Přítomny jsou i další alkoholy, např. butan-1-ol, hexan-1-ol, linalool a 2-fenyl-ethanol [11].

#### 2.5 Legislativa vonných látek v oblasti kosmetiky

Jedním z cílů této práce je stanovení AAL, které jsou dle kosmetické legislativy označeny jako potenciálně alergenní.

Evropská Unie (EU) vydala v r. 2003 zákon v příloze III EU Kosmetické direktivy (direktiva 2003/15/EC), která stanovila podmínky použití do kosmetických produktů pro těchto 26 vůní souvisejících se substancemi klasifikovanými jako pravděpodobné, že způsobují alergické reakce (direktiva 2003/15/EC). Z těchto 26 substancí (viz následující kapitola 2.6) je 24 chemicky definovaných a 2 jsou mechové extrakty [8, 20, 21].

Aktuálně je problematika aromatických látek v potravinách právně ošetřena především Nařízením č. 1334/2008/ES a příslušnými prováděcími přílohami (793/2012/ES a 872/2012/ES). Z 26 vonných látek definovaných Kosmetickou direktivou (2003/15/EC) je

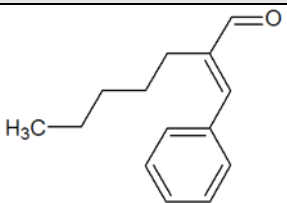
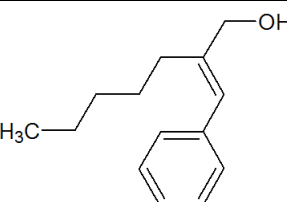
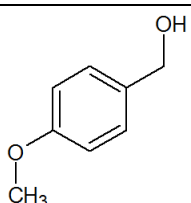
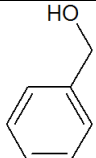
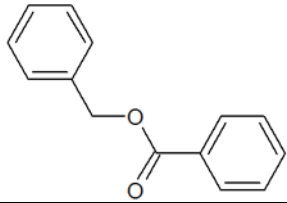
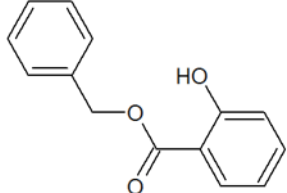
v potravinářském průmyslu limitován pouze kumarin z Nařízení 1334/2008/ES kvůli jeho toxicitě a podezření z karcinogenních účinků [8, 20, 21].

## 2.6 Seznam alergenních vonných látek

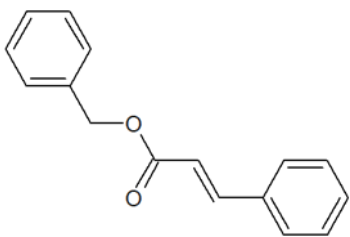
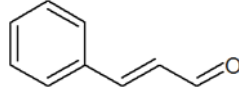
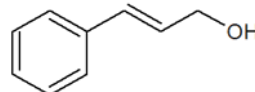
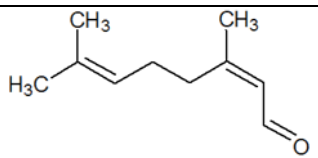
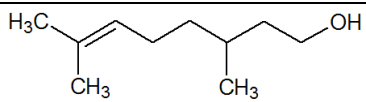
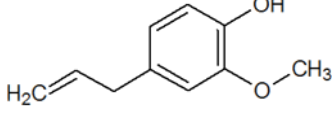
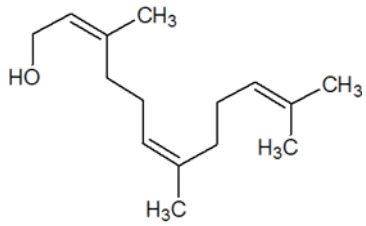
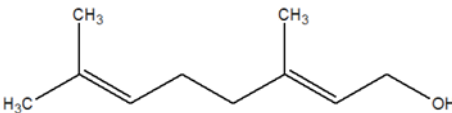
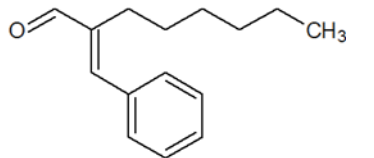
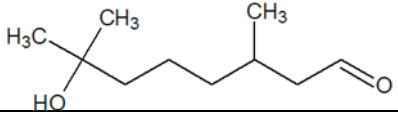
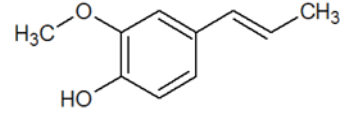
V této kapitole (viz Tabulka 4. a 5.) jsou popsány jednotlivé potenciálně alergenní látky. Jejich názvy jsou uváděny tak, jak se nejčastěji vyskytují na obalech výrobků [17, 22–24].

Jejich přítomnost musí být vyznačena na obale kosmetického výrobku, pokud koncentrace překračuje: 10 mg·l<sup>-1</sup> v přípravcích, které se neoplachují a 100 mg·l<sup>-1</sup> v přípravcích, které se oplachují. Na rozdíl od kosmetických přípravků, v případě potravin tyto látky nemusí být jmenovitě uvedeny na obalech, přesto je sledování jejich obsahu vysoce žádoucí vzhledem k možnému zdravotnímu riziku, které představují.

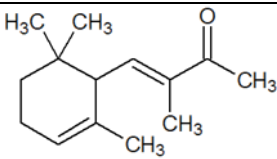
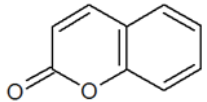
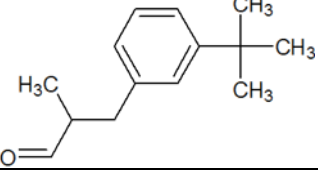
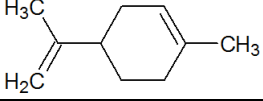
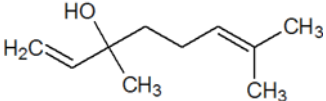
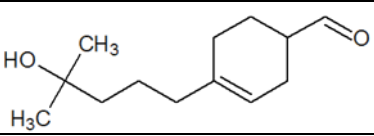
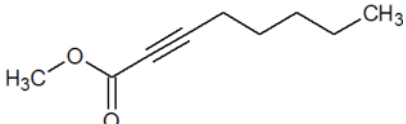
Tabulka 4.: Vlastnosti alergenních vonných látek

Název CAS číslo	Molární hmotnost [g·mol <sup>-1</sup> ]	Teplota varu [°C]	Struktura
α-Amylcinnamal [122-40-7]	202,30	287 až 290	
Amylcinnamyl alkohol [101-85-9]	202,30	>200	
Anýz alkohol [105-13-5]	138,16	259	
Benzyl alkohol [100-51-6]	108,13	138 až 145	
Benzyl ester kyseliny benzoové [120-51-4]	212,26	323	
Benzyl ester kyseliny salicylové [118-58-1]	228,26	168 až 170	

Tabulka 4.: Vlastnosti alergenních vonných látek – pokračování

Benzyl ester kyseliny skořicové [103-41-3]	238,28	195 až 200	
Cinnamal [104-55-2]	132,16	248	
Cinnamyl alkohol [104-54-1]	134,18	142 až 145	
Citral [5392-40-5]	152,24	229	
Citronellol [106-22-9]	156,27	225	
Eugenol [97-53-0]	164,21	256	
Farnesol [4602-84-0]	222,37	155 až 157	
Geraniol [106-24-1]	154,25	229	
Hexylcinnamal [101-85-0]	216,35	174 až 176	
Hydroxycitronellal [107-75-5]	170,25	240 až 245	
Isoeugenol [97-54-1]	164,21	266	

Tabulka 4.: Vlastnosti alergenních vonných látek – pokračování

Isomethyl ionon [127-51-5]	206,32	266	
Kumarin [91-64-5]	146,15	162	
Lilial [80-54-6]	204,31	297	
Limonen [5989-27-5]	136,234	176	
Linalool [78-70-6]	154,25	194 až 197	
Lylal [31906-04-4]	210,00	93	
Methyl-2-oktát [111-12-6]	154,21	215 až 217	

Tabulka 5.: Vlastnosti a použití alergenních vonných látek

Látka	Vlastnosti a použití
$\alpha$ -Amylcinnamal	Je to běžná aromatická látka, která se vyskytuje v mnoha silicích květů, zvláště jasmínových. Požívá se v kosmetice, potravinářství, v čisticích prostředcích aj.
Amylcinnamyl alkohol	Aromatická syntetická látka, bezbarvá, čirá kapalina s vůní broskví, banánů a hrušek s jasmínovou chutí. Vyskytuje se například v parfémovaných kosmetických výrobcích, v ovocných aromatizovaných čajích a cukrovinkách.
Anýz alkohol	Je to bílá lehce nažloutlá tekutina, která se vyskytuje i v přírodě, např. v anýzových semínkách, v květech hyacintů, v medu, ve vanilkových luscích a bourbonské whisky. Často používána v kosmetickém průmyslu.
Benzyl alkohol	Čirá bezbarvá olejovitá tekutina s nasládlou mandlově-ovocnou vůní. V přírodě se vyskytuje v jasmínu, v pomerančových květech aj. Má anestetické, antiseptické a antipruriginózní účinky. Používá se jako antimikrobiální konzervační látka ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Pro svou vůni se používá do aromat peckovitého ovoce, zvláště višně

Tabulka 5.: Vlastnosti a použití alergenních vonných látek – pokračování

Benzyl ester kyseliny benzoové	Vyskytuje se ve formě bezbarvých krystalků nebo jako bezbarvá viskózní kapalina. Má příjemnou aromatickou vůni, balzamicko-mandlovou. Je součástí peruánského a toluánského balzámu, používá se jako součást insekticidů. V kosmetice se využívá i jako stabilizátor vůní nebo jako rozpouštědlo. V potravinářském průmyslu se používá jako aditivum.
Benzyl ester kyseliny salicylové	Je to organické rozpouštědlo s příjemnou vůní, které slouží především jako fixativum pro různé vonné látky. Slouží i jako filtr pro UV záření, který se používá v levných ochranných slunečních přípravcích o koncentraci 2–7%.
Benzyl ester kyseliny skořicové	Je to vonná látka typu balzámu se sladkou vůní květů a plodů třešní. Používá se v kosmetickém průmyslu do sladkých a těžkých aromat. Je součástí peruánského a toluánského balzámu.
Cinnamal	Je to velmi běžná aromatická látka, která je součástí mnoha éterických rostlinných olejů, např. levandulového, hyacintového a dalších. Je přítomen také v olejích listů čajovníků a vinné révy, v kůře skořicovníku a v cassiovém oleji. Používá se jako koření v potravinářském průmyslu, pro zlepšení nebo zvýraznění chuti v zubních pastách a ústních vodách aj.
Cinnamyl alkohol	Je to pevná látka s velmi příjemnou květinovou až skořicovou vůní a hořkou chutí. V přírodě se vyskytuje v mnoha rostlinách, ve skořicové silici, v listech a kůře. Je velmi často používána v parfumerii. Je součástí vůně fialkové a hyacintové.
Citral	Je to olejovitá kapalina nažloutlé barvy s příjemnou citrónovou vůní a nahořklou chutí. Je obsažen v citrusových plodech (citrón, pomeranč), v citronové silici tvoří až 80%, v olejích dalších rostlin rodu <i>Cymbopogon</i> , dále v mnoha druzích rostliny <i>Sporýš</i> spp., čeledi <i>Verbenaceae</i> , v Myrhovníku citronovém – <i>Backhousia citriodora</i> , čeledi <i>Myrtaceae</i> , jehož listy se používají pod názvem „lemon myrtle“ jako přísada do čajových směsí, <i>Aloisie trojlísté-Lippia citriodora</i> , která se samostatně používá jako bylinný čaj zn. Dichi.
Citronellol	Je to přírodní acyklický monoterpenoid přítomný ve více než 30 rostlinných olejích, v černém čaji a v mnoha druzích ovoce. Je to bezbarvá až světle žlutá olejovitá tekutina s nasládlou vůní květů, růže a s jemnou nuancí citrusů. Je nejčastěji používaná aromatická látka v parfumerii. Používá se k ochucování nápojů.
Eugenol	Eugenol je bezbarvá kapalina hnědnoucí na vzduchu a na světle, voní hřebíčkem a karafiátem. V přírodě je obsažen v mnoha silicích, hlavně hřebíčkové, z níž se obvykle získává. Má také antiseptické, antibakteriální a bolest tišící vlastnosti.
Farnesol	Je bezbarvá tekutina se sladkou květinovou vůní. Je přítomen v mnoha esenciálních olejích např. růžový, citronella, moschus nebo v Peruánském a Toluánském balzámu. Vyskytuje se také v květech pomerančovníku, růže, jasmínu, konvalínek nebo lípy. Používá se v parfumerii. Má také bakteriostatické účinky.

Tabulka 5.: Vlastnosti a použití alergenních vonných látek – pokračování

Geraniol	Je jednou z nejčastěji používaných aromatických látek. Geraniol je přítomen ve většině rostlinných silic, poskytuje vůni "růže". Má také antiseptický účinek.
Hexylcinnamal	Je to čirá žlutá tekutina s jemnou jasmínovou vůní. Je často používán v kosmetice a parfumerii.
Hydroxycitronellal	Je to velmi aromatická syntetická látka, která je součástí vůně lípy nebo konvalinky. Je přidávána ke všem vůním květů pro zesílení jejich aroma.
Isoeugenol	Isoeugenol je bezbarvá až nažloutlá viskózní kapalina, která má něžnou karafiátovou vůni. Je to velmi rozšířená aromatická látka, která se vyskytuje v mnoha rostlinách a v éterických olejích (např. v hřebíčkovém).
Isomethyl ionon	Je to synteticky vyrobená vonná látka květinového typu, která je dobře mísitelná s mnoha dalšími vonnými substancemi, a proto se používá jako součást vůně různých kosmetických výrobků. V koncentrovaném stavu je to bezbarvá až žlutá tekutina.
Kumarin	Kumarin jsou lesklé krystalky příjemné vůně připomínající tonkové boby, luční seno a vzdáleně vanilku. Používá se v parfumerii jako fixativum vůně a v potravinářství např. v aromatických alkoholických nápojích. Snižuje srážlivost krve, a proto se používá se jako deratizační jed pro hlodavce. Byla prokázána i jeho schopnost vyvolávat přecitlivělost na sluneční UV záření.
Lilial	Je to synteticky vyrobená vonná látka květinové vůně, která se v přírodě nevyskytuje. Je to bezbarvá nebo lehce nažloutlá, čirá, olejovitá tekutina. Lilial se nejčastěji používá v kosmetickém průmyslu pro výrobu mýdel a různých detergentů.
Limonen	Je to bezbarvá kapalina se svěží citrónovou vůní, na vzduchu se snadno oxiduje. V přírodě se vyskytuje v citrusech, v pepři, v australském tea tree oleji a v muškátovém oříšku.
Linalool	Je bezbarvá kapalina s výraznou květinovou vůní, připomínající konvalinky. V přírodě se vyskytuje v mnoha silicích. Koncentrovaná vůně připomíná vůně květů citrusů nebo divoké růže. Používá se v kosmetických výrobcích, především v pěnách do koupele, v šamponech, ve sprejích na vlasy a v tekutých i pevných mýdlech.
Lylal	Je bezbarvá olejovitá tekutina s příjemnou, jemnou, sladkou květinovou vůní lilií, konvalinek nebo cyklámenů. Vyznačuje se extrémně dlouhou dobou působení, také proto bývá přidáván jako obohacovadlo do mnoha parfémových směsí.
Methyl-2-oktát	Je to synteticky vyrobená vonná látka, bezbarvá nebo lehce nažloutlá, která se v přírodě nevyskytuje. Je dobře mísitelná s mnoha dalšími vonnými substancemi a proto se používá jako součást vůně různých kosmetických výrobků. V koncentrovaném stavu vůně připomíná listy okurků.

## 2.7 Použité metody a instrumentální techniky

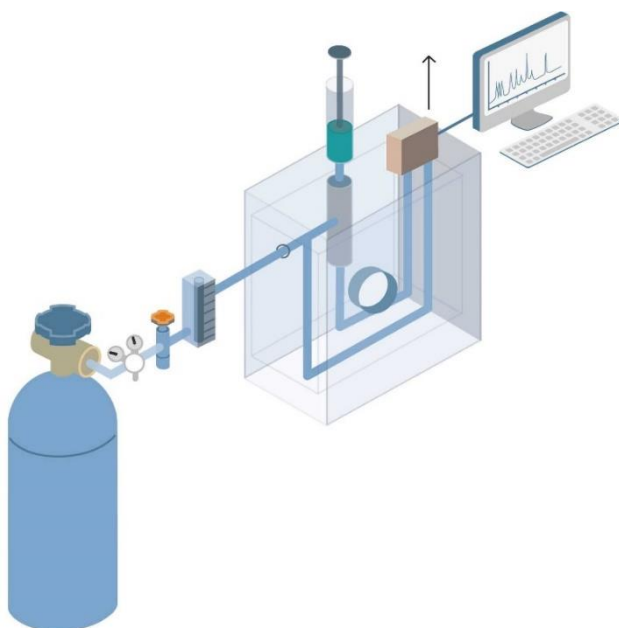
Senzoricky aktivní (vonné) látky jdou poměrně složitě stanovit vzhledem k nízkým koncentracím analyzovaných složek ve vzorku. Nejprve je potřeba jednotlivé složky izolovat a poté analyzovat. Vhodnými analytickými metodami ke stanovení senzoricky aktivních složek jsou: plynová chromatografie (GC), kapalinová chromatografie (LC), vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC), chromatografie na tenké vrstvě (TLC), hmotnostní spektrometrie (MS), ultrafialová absorpční spektrometrie (UV spektrometrie), infračervená spektrometrie (IR spektrometrie), nukleární magnetická rezonance (NMR) [25].

Nejvhodnější a nejčastější používaná metoda je plynová chromatografie vzhledem ke své citlivosti a vysoké rozlišovací schopnosti, v praxi se pak často kombinuje s hmotnostní detekcí. Pro stanovení aromaticky aktivních látek v experimentální části této práce byla použita metoda HS-SPME-GC/MS. Použité techniky jsou stručně popsány v následujících kapitolách.

### 2.7.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je analytická separační metoda, která má významné postavení v analýze těkavých látek. Metoda je založena na rozdělování složek mezi dvě fáze, fází pohyblivou (mobilní) a fází nepohyblivou (stacionární). V plynové chromatografii je mobilní fází „nosný“ plyn. Stacionární fáze je umístěna v chromatografické koloně. U náplňových kolon může být stacionární fází pevná látka (aktivní uhlí, silikagel, alumina) nebo kapalina nanesená v tenké vrstvě na pevném, inertním nosiči. Kapilární kolony využívají jako nosiče stacionární fáze své vnitřní stěny [26, 27].

Princip separace látek pomocí plynové chromatografie: vzorek se vnese (nastříkne) do temperované nástříkové komory (injektoru), kde se odpaří a ve formě par je unášen nosným plynem do kolony. Složky ze vzorku se sorbují na začátku kolony ve stacionární fázi a pak desorbují čerstvým nosným plynem. Nosný plyn unáší složky vzorku postupně ke konci kolony a dělicí proces se neustále opakuje. Detektor indikuje okamžitou koncentraci separovaných látek v nosném plynu. Signál detektoru se vyhodnocuje a z jeho časového průběhu (chromatogramu) se určí druh a kvantitativní zastoupení složek [25, 26, 27].



Obrázek 2.: Schéma plynového chromatografu [28]



Schéma plynového chromatografu je uvedeno na Obrázku 2. Zařízení pro plynovou chromatografii se skládá ze zdroje nosného plynu, zařízení pro regulaci tlaku a průtoku nosného plynu, injektoru, kolony, detektoru, termostatu, zařízení pro zesílení signálu z detektoru a vyhodnocovacího zařízení [25, 27].

### 2.7.2 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-MS)

Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-MS) se v poslední době široce používá jako výkonná technika plynové chromatografie. Používá se v různých oblastech včetně ekologie, soudního lékařství, kriminalistiky, a v neposlední řadě při kontrole výroby potravin a nápojů. Předností této techniky je spojení vysoké separační schopnosti plynového chromatografie s identifikačními možnostmi hmotnostní spektrometrie [27, 29].

U MS je vzorek ionizován a vzniklé ionty jsou separovány podle hodnoty podílu jejich hmotností a náboje. Běžný MS se skládá z několika hlavních částí: vstupu, iontového zdroje, separátoru iontů, detektoru se zesilovačem a záznamovým zařízením a vakuového systému. Podstatný pro použití GC-MS je dělič umístěný na výstupu z kolony, který dělí proud nosného plynu do dvou větví, aby nedošlo k porušení vakua v MS [27].

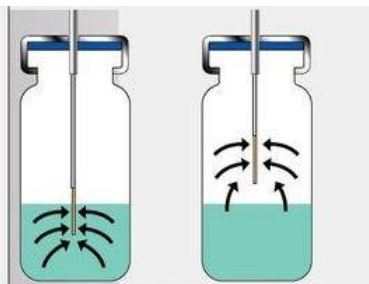
### 2.7.3 Mikroextrakce na tuhou fázi (SPME)

SPME (Solid Phase Microextraction – mikroextrakce na tuhou fázi) je jednoduchá a účinná sorpčně-desorpční metoda zkoncentrování analytu. Principem je expozice malého množství sorbentu, tj. extrakční fáze, nadbytkem vzorku. Na rozdíl od klasických extrakčních metod není analyt extrahován ze vzorku v co nejvyšší koncentraci, ale pouze do dosažení rovnovážného stavu. Rovnováha se ustanovuje mezi koncentrací analytu ve vzorku, headspace prostorem nad vzorkem a polymerní vrstvou na křemenném vlákne. Rovnovážný stav SPME techniky je tedy závislý na koncentraci analytu ve vzorku a na typu a tloušťce polymeru, který pokrývá křemenné vlákno. Množství sorbovaného analytu závisí také na distribuční konstantě, která zpravidla narůstá s rostoucí molekulovou hmotností a teplotou varu analytu [20, 30, 31].



Obrázek 3.: SPME vlákno [30]

Metoda SPME umožňuje provádět dva způsoby extrakce. První způsob je přímá SPME (DI-SPME), při které dochází k ponoření vlákna přímo do vzorku. Druhým způsobem je headspace SPME (HS-SPME), u této techniky je vlákno umístěno v prostoru nad vzorkem. Na Obr. 4 jsou znázorněny oba způsoby vzorkování [29, 30, 32].



Obrázek 4.: DI-SPME a headspace SPME [30]

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Laboratorní vybavení a chemikálie

##### 3.1.1 Plyny

- Helium čistota 4.8, v tlakové lahvi s redukčním ventilem (SIAD, Česká republika)

##### 3.1.2 Přístroje

- Plynový chromatograf Trace™ 1310 se split/splitless injektorem (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Hmotnostní detektor ISQ™ LT Single Quadrupole (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) viz Obrázek 5.: Plynový chromatograf s hmotnostním detektorem
- Knihovna spekter NIST/EPA/NIH, Verze 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA)
- Analytické digitální váhy HELAGO, GR-202-EC, Itálie



Obrázek 5.: Plynový chromatograf s hmotnostním detektorem

##### 3.1.3 Pracovní pomůcky

- SPME-vláknó DVB/CAR//PDMS 50/30  $\mu\text{m}$  (Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA)
- Mikropipety BiohitProline (100–1000  $\mu\text{m}$ ), špičky
- Vialky o objemu 10 ml se šroubovacím magnetickým uzávěrem
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky

##### 3.1.4 Chemikálie

Byly použity následující chemikálie a standardy alergenních vonných látek, všechny v čistotě p.a.

- $\alpha$ -Amylcinnamaldehyd 97 %, Sigma–Aldrich
- $\alpha$ -Amylcinnamyl alkohol  $\geq 85$  %, Fluka Analytical

- Anýzalkohol 98 %, Sigma–Aldrich
- Benzylalkohol 99 %, Alfa Aesar
- Benzylbenzoát 99 %, Alfa Aesar
- Cinnamaldehyd  $\geq 93$  %, SAFC Supply Solution
- Cinnamylalkohol 98 %, Alfa Aesar
- Citral, cis + trans 95 %, Alfa Aesar
- Citronellol 96 %, Alfa Aesar
- Kumarin 98 %, Alfa Aesar
- Eugenol 99 %, Alfa Aesar
- Farnesol 95 %, Sigma–Aldrich
- Geraniol 97 %, Alfa Aesar
- $\alpha$ -Hexylcinnamal  $\geq 95$  %, SAFC Supply Solution
- 7-Hydroxycitroellal  $\geq 95$  %, Fluka Analytical
- Isoeugenol 98 %, Alfa Aesar
- $\alpha$ -Isomethylionon  $\geq 85$  %, Fluka Analytical
- Lilial  $\geq 95$  %, Sigma–Aldrich
- Limonen 97 %, Alfa Aesar
- Linalool 97 %, Alfa Aesar
- Lylal  $\geq 97$  %, Sigma–Aldrich
- Methyl 2-oktyonát 99 %, Sigma–Aldrich
- Heptan 99 %, Sigma–Aldrich
- Methanol 99,5 %, Lach-Ner

### 3.2 Analyzované vzorky

Celkem bylo analyzováno pět náhodně vybraných vzorků želé cukrovinek (želatinoví medvídci) českých i zahraničních výrobců zakoupených v běžné tržní síti. Pro tuto práci byly vybrány dva druhy barev (příchutí): zelená (jablko) a oranžová (pomeranč) (viz. Obr. 6).



Obrázek 6.: Analyzované vzorky želé cukrovinek, zleva A01, A05, A02, A03 a A04

Vzorky byly skladovány v chladničce při teplotě 12°C až do doby analýzy. Podrobnější informace o složení jednotlivých vzorků (uvedené na etiketě výrobku) uvádí Tabulka 6. Pro zachování anonymity distributora jsou testované vzorky zakódovány.

Tabulka 6.: Přehled analyzovaných vzorků (informace uvedené na obalech).

		Vyrobeno	Hmotnost	Složení
A01	želé s ovocnými příchutěmi	V České republice	100 g	Glukózový sirup, cukr, želatina, jablečná šťáva z koncentrátu 5%, kyseliny (kyselina vinná, jablečná, citronová), koncentrát šťávy z černé mrkve, extrakt ze spiruliny, aroma (jahoda, jablko, pomeranč, citrón), lešticí směs (rostlinné tuky: palmojadrový, kokosový; lešticí látka: karnaubský vosk), regulátor kyselosti (askorban sodný), barviva (paprikový extrakt, karoteny, kurkumin).
A02	želé s ovocnými příchutěmi	V České republice	100 g	Glukózový sirup; cukr; jedlá želatina; dextróza; ovocná šťáva z koncentrátu: jablko, jahoda, malina, pomeranč, citron, ananas; kyselina: kyselina citronová; ovocné a rostlinné koncentráty: světlice barvířská, řasa spirulina, jablko, černý bez, pomeranč, černý rybíz, kiwi, citron, aronie, mango, mučenka, hroznové víno; aroma; extrakt z černého bezu; lešticí látky: včelí vosk bílý a žlutý, karnaubský vosk.
A03	želatinové bonbóny	V České republice	100 g	Glukózový sirup, želatina, voda, kyselina (kyselina citronová), lešticí směs (rostlinný olej kokosový), lešticí látka (karnaubský vosk), aroma, barviva (karmíny, kurkumin, měďnaté komplexy chlorofylů a chlorofylinů, paprikový extrakt), koncentrát (ibišek, mrkev), rostlinný olej (bambucké máslo).
A04	želé	v Německu	100 g	Glukózový sirup; cukr; želatina; kyseliny (kyselina citrónová a mléčná); barviva (černý bez, hrozny, černý rybíz, mrkev, paprika, kurkuma, kopřiva, špenát); aroma; rostlinný olej (palmový); lešticí látka (včelí vosk bílý a žlutý, karnaubský vosk).
A05	želé s ovocnou příchutí	v České republice	100 g	Glukózový sirup; cukr; pitná voda; vepřová želatina; regulátor kyselosti (kyselina citronová); zvlhčující látka (sorbitol); koncentrovaná hroznová šťáva (1,2%); aroma; lešticí směs (kokosový olej, lešticí látka: karnaubský vosk), extrakt ze světlice barvířské; koncentrát řasy spirulina, koncentrát z černé mrkve, bezinkový koncentrát.

### 3.3 Metoda HS-SPME-GC/MS

Pro stanovení aromaticky aktivních látek ve vzorcích byla vybrána metoda HS-SPME-GC/MS. Jednotlivé vzorky želé cukrovinek byly nakrájeny na malé kousky o velikosti cca 2–4 mm. Do vialek o objemu 10 ml byly naváženy přibližně 3 g vzorku (viz Obr. 7). Vzorek byl nanášen na dno vialky tak, aby nedošlo k pozdějšímu kontaktu s SPME vláknem. Vialka byla umístěna do autosampleru pro analýzu.



Obrázek 7.: Vzorek připravený k analýze

#### 3.3.1 Podmínky SPME extrakce

- Doba inkubace (temperování) 10 minut
- Doba extrakce 20 minut
- Teplota extrakce a inkubace (teplota agitátoru) 40 °C
- Agitátor zapnutý 5 sekund, vypnutý 30 s
- Množství vzorku 3 g
- Hloubka ponoření vlákna do vialky 20 mm

#### 3.3.2 Podmínky GC-MS analýzy

- Kapilární kolona TG–Wax×MS (30 m × 0,25 mm × 0,5 μm)
- Teplota injektoru (desorpce) 240 °C
- Doba desorpce 40 minut
- Dávkování splitless, ventil uzavřen 10 minut
- Hloubka ponoření vlákna do injektoru 40 mm
- Nosný plyn helium, průtok 1 ml·min<sup>-1</sup>
- Teplotní program 40 °C s výdrží 2 min., vzestupný gradient 3°C/min do 130 °C s výdrží 0 min., vzestupný gradient 5 °C/ min do 200 °C s výdrží 0 min., celková doba analýzy 50 minut
- Hmotnostní detektor v modu EI, energie ionizačních elektronů 70 eV, teplota iontového zdroje 200 °C, skenovací rozsah m/z 30–370 amu, rychlost skenování 0,2 s

#### 3.3.3 Vyhodnocení výsledků HS-SPME-GC/MS analýzy

##### 3.3.3.1 Příprava kalibračních přímk standardů

Ze standardů byly vytvořeny zásobní roztoky v destilované vodě, příp. methanolu, o koncentraci 10 mg·ml<sup>-1</sup> v objemu 10 ml, které byly následně ředěny na požadovanou

koncentraci. Z každého standardu bylo připraveno min. 5 různých koncentrací a analyzováno za stejných experimentálních podmínek jako vzorky (kap. 3.3).

### **3.3.3.2 Identifikace a kvantifikace aromaticky aktivních látek ve vzorcích**

Vyextrahované AAL ve vzorcích byly identifikovány pomocí programu Xcalibur 2.2 (Thermo Scientific Inc, Waltham, MA, USA) na základě srovnání hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou spekter.

Identifikace alergenních AAL byla navíc potvrzena srovnáním retenčních časů s dostupnými standardy. Pro kvantifikaci byla použita metoda přímého srovnání, jejímž principem je srovnání odpovídající plochy píku analytu a standardu o známých množstvích a za stejných podmínek

Koncentrace alergenních AAL byla vypočtena pomocí vztahu:

$$c_i = \frac{A_i}{A_s} \cdot c_s \quad (1)$$

kde  $c$  je koncentrace v  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  (resp.  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) a  $A$  příslušná plocha píku. Index  $i$  označuje vzorek a  $s$  označuje standard. Platí:  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1} \approx \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

## **3.4 Statistické zpracování výsledků**

Pomocí programu Microsoft Office Excel 2013 byly vypočítány koncentrace alergenních AAL, jejich aritmetický průměr, směrodatná odchylka a interval spolehlivosti.

Každý vzorek byl analyzován dvakrát ( $n=2$ ).

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato bakalářská práce je pilotní částí studie, která se bude zabývat studiem senzorické kvality nečokoládových cukrovinek se zaměřením především na chuť a aroma a s nimi související obsah aromatických látek.

Podstatou této práce je identifikace AAL ve vybraných druzích nečokoládových cukrovinek; jako modelové vzorky byly vybrány cukrovinky typu želé, želatinové medvídci, u nás velmi oblíbené; konkrétně byly analyzovány dva druhy barev (příchutí) od pěti výrobců: zelená (jablko) a oranžová (pomeranč); hlavním cílem bylo (i) posoudit rozdíly v obsahu AAL mezi vzorky stejného typu od různých výrobců, (ii) posoudit rozdíly v obsahu AAL mezi oběma příchutěmi, tj. jablko vs. pomeranč.

Želé cukrovinky jsou podle platné legislativy (vyhláška č. 76/2003 Sb.) definovány jako „cukrovinky s konzistencí gelu, vzniklou přidáním želírujících látek, zejména pektinu, agaru, škrobu nebo želatiny“. Na trhu je dostupný široký sortiment produktů od tuzemských i zahraničních výrobců, různých barev, tvarů a příchutí. Jejich kvalita tkví především v senzorické atraktivitě, proto se také při jejich výrobě používá řada různých aditivních látek, jako např. barviva a aroma.

V potravinářské praxi jsou pojmem „aroma“ označovány speciálně komponované směsi mnoha různých AAL používané k aromatizaci potravin, resp. pochutin. Důvodem jejich použití je zlepšit, příp. zajistit standardní chuť a vůni potravin/pochutin, přizpůsobit chuť požadavkům spotřebitele a v neposlední řadě nahradit omezené zdroje přírodních ochucujících surovin surovinami levnějšími a tak snížit náklady na výrobu.

Potravinářská legislativa povoluje označit jejich přídavek do potravin/pochutin pouze jednoduchým údajem „aroma“ nebo „aromatizováno“ na obalu výrobku. Problémem však je, že vzhledem k ne přesně definovanému původu a složení mohou obsahovat některé z AAL klasifikovaných jako potenciálně alergenní. Dalším cílem této práce tedy bylo kvantifikovat alergenní AAL příp. přítomné ve vzorcích a posoudit jejich možné negativní účinky při konzumaci.

Pro stanovení AAL, alergenních a nealergenních, byla zvolena metoda HS-SPME-GC/MS. Podmínky stanovení jsou uvedeny v kapitole 3.3.

### 4.1 Identifikace aromaticky aktivních látek ve vzorcích

Těkavé látky byly identifikovány na základě srovnání hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou spekter. V Tabulkách 7–11 je uveden přehled identifikovaných těkavých látek samostatně pro jednotlivé vzorky. Tučně jsou zvýrazněny potenciální vonné alergeny.

Vzhledem k mírným odchylkám retenčních časů je vždy uveden průměr a relativní směrodatná odchylka (ze všech měřených vzorků), která se pohybovala většinou <1%, což lze považovat za výbornou reprodukovatelnost.

Naše výsledky byly porovnány s některými dostupnými publikacemi [33–78], většina z námi identifikovaných sloučenin už byla dříve popsána jako aromaticky aktivní, sloučeniny označené \* jsou pravděpodobně aromaticky aktivní, ale ověřené zdroje pro ně nebyly nalezeny (viz Tabulky 7–11).

Ve všech vzorcích bylo identifikováno celkem 230 těkavých sloučenin, včetně 8 alergenních; z toho 55 alkoholů, 68 esterů, 29 alkenů, 18 aldehydů, 25 ketonů, 2 ethery,



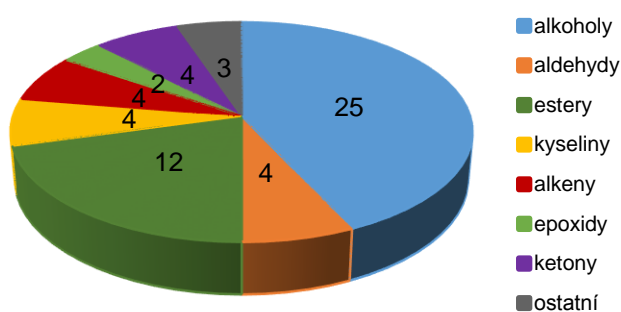
3 epoxidy, 9 karboxylových kyselin a 21 dalších sloučenin, které nešlo zařadit do žádné z těchto kategorií.

Získané chromatogramy jsou uvedeny v Přílohách 1–10.

Jelikož nebyly k dispozici veškeré potřebné standardy, obsah těkavých látek ve vzorcích byl sledován pouze z hlediska kvalitativního. Je jasné, že pro lepší vyjádření rozdílů mezi vzorky bude daleko zajímavější kvantitativní stanovení, proto bude následující práce zaměřena především na výběr a ověření vhodné metody kvantifikace. V této práci byly kvantifikovány pouze alergenní AAL (viz Kapitola 4.4).

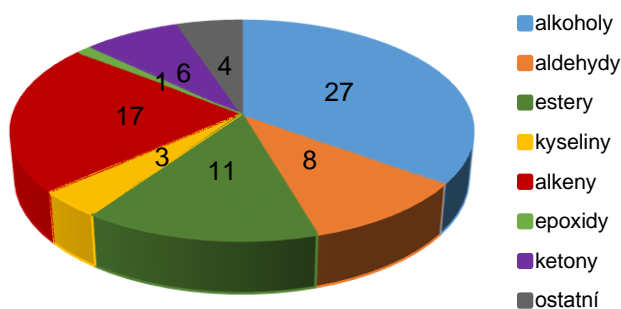
#### 4.1.1 Vzorek A01

V zeleném vzorku A01 bylo identifikováno celkem 58 AAL včetně 7 alergenních. Většinu z nich tvořily alkoholy (25) a estery (12). Názornější srovnání lze vidět v Graf 1 Grafu 1.



Graf 1.: Zastoupení jednotlivých skupin ve vzorku A01 (zelená/ jablko)

V oranžovém vzorku bylo identifikováno celkově 77 AAL včetně 8 alergenních. Zde tvořily většinu alkoholy (27) a alkeny (17). Podrobnější zastoupení jednotlivých skupin je zobrazeno v Grafu 2.



Graf 2.: Zastoupení jednotlivých skupin ve vzorku A01 (oranžová/pomeranč)

Chromatogramy obou vzorků A01 jsou součástí přílohy č. 1 a 2. V následující Tabulce 7. jsou uvedeny všechny identifikované AAL ve vzorcích A01.



Tabulka 7.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A01

č.	Látka	R <sub>t</sub> [min]	Relativní odchylka R <sub>t</sub> [%]	Zelený/jablko	Oranžový/pomeranč	Funkční skupina	Odkazy
1	ethylacetát	3,90	0,02	x	x	ester	[33]
2	methanol	4,03	0,05		x	alkohol	[34]
3	ethanol	4,80	0,01	x	x	alkohol	[34]
4	methylester kys. 2-methylbutanové	6,66	-	x		ester	*
5	α-pinen	6,88	0,02		x	alken	[35]
6	ethylbutyrát	7,54	0,02	x		ester	[34]
7	butylacetát	8,76	0,04	x		ester	[34]
8	sabinen	10,41	0,04		x	alken	[36]
9	3-methyl-1-butanolacetát	10,62	0,03	x		ester	[33]
10	1,5,5,6-tetramethylcyklohexa-1,3-dien	11,47	0,02		x	alken	*
11	β-myrcen	12,25	0,04		x	alken	[37]
12	1,3,3-trimethyl-2-oxabicyklo[2.2.2]oct-5-en	13,14	-	x		epoxid	[38]
13	<b>D-limonen</b>	13,67	0,12	x	x	alken	[39]
14	eukalyptol	13,84	0,04	x		epoxid	[40]
15	3-methylbutan-1-ol	14,05	0,03	x		alkohol	[33]
16	1-methyl-4-(prop-1-en-2-yl)cyklohexa-1,3-dien	14,33	-	x		alken	[41]
17	3-ethyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol	14,58	-	x			*
18	ethylhexanoát	15,20	0,04	x	x	ester	[33]
19	γ-terpinen	15,62	0,06	x	x	alken	[35]
20	2,6-dimethyl-1,3,5,7-oktatetraen	15,77	0,01	x	x	alken	[42]
21	2-methyl-5-prop-1-en-2-ylcyklohexa-1,3-dien	15,78	-		x	alken	*
22	β-cis-ocimen	15,98	0,04		x	alken	[35]
23	o-cymen	16,76	0,03		x	alken	[43]
24	hexylacetát	16,92	0,06	x		ester	[33]
25	1-methyl-4-(1-methylethyliden)cyklohexen	17,24	0,04		x	alken	[37]

Tabulka 7.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A01 – pokračování

26	oktanal	17,64	0,03		x	aldehyd	[34]
27	<i>trans</i> -4,8-dimethylnona-1,3,7-trien	18,35	0,03		x	alken	[44]
28	<i>cis</i> -(3-hexen-1-ol)acetát	18,64	0,24		x	ester	*
29	(4-hexen-1-ol)acetát	18,85	0,02	x		ester	*
30	hexanol	20,36	0,03	x	x	alkohol	[34]
31	<i>cis</i> -3-hexen-1-ol	21,73	0,03	x	x	alkohol	[33]
32	nonanal	22,12	0,03	x	x	aldehyd	[34]
33	ethyl-oktanoát	23,77	0,03	x	x	ester	[33]
34	1-methyl-3-(1-methylethenyl)-benzen	24,04	0,03		x		*
35	$\alpha$ -kubeben	24,53	0,03		x	alken	*
36	eukalyptol 2	24,75	0,02		x	epoxid	[40]
37	menthon	24,89	-	x		keton	[40]
38	octová kyselina	25,10	0,08	x	x	kyselina	[34]
39	furfural	25,33	0,03	x	x		[40]
40	oktylacetát	25,50	0,03		x	ester	[40]
41	citronellal	25,73	0,02		x	aldehyd	[40]
42	$\alpha$ -kopaen 2	25,98	0,03		x	alken	[35]
43	dekanal	26,60	0,03		x	aldehyd	[34]
44	benzaldehyd	27,99	0,04	x		aldehyd	[33]
45	1-isopropyl-4-methyl-7-methylen-1,2,3,4,4a,5,6,7-oktahydronaftalen	28,24	0,06		x		*
46	<b>linalool</b>	29,10	0,04	x	x	alkohol	[33]
47	oktanol	29,60	0,05	x	x	alkohol	[34]
48	isopulegol	30,30	0,07		x	alkohol	[45]
49	dimethylsulfoxid	30,48	0,04		x		[46]
50	terpinenol	30,59	0,03	x	x	alkohol	[46]
51	fenchol	31,17	0,08	x		alkohol	[46]
52	$\beta$ -kopaen	31,28	0,05		x	alken	*
53	karyofylen	31,62	0,04		x	alken	[35]

Tabulka 7.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A01 – pokračování

54	4-terpineol	32,42	0,05	x	x	alkohol	[35]
55	undekanal	32,60	0,04		x	aldehyd	[34]
56	<i>trans</i> -dihydrokarvon	34,07	0,10		x	keton	[47]
57	<i>cis</i> -1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyklohex-2-en-1-ol	34,41	0,06	x	x	alkohol	[48]
58	$\beta$ -terpineol	34,63	0,05		x	alkohol	[46]
59	ethyldekanoát	35,14	0,06		x	ester	[33]
60	menthol	35,22	-		x	alkohol	[46]
61	<i>cis</i> -3-hexenylhexanoát	36,49	0,03	x	x	ester	[46]
62	nonanol	37,09	0,05		x	alkohol	[34]
63	furfurylalkohol	37,34	0,62	x	x	alkohol	[46]
64	<b><math>\beta</math>-citral</b>	38,46	0,05	x	x	aldehyd	[46]
65	<i>cis</i> -carveol	38,91	0,06		x	alkohol	[48]
66	$\alpha$ -terpineol	39,56	0,05	x	x	alkohol	[35]
67	eremofilen	40,29	0,05		x	alken	*
68	piperiton	40,93	-		x	keton	[43]
69	1-methyl-4-isopropenylcyklohex-6-en-2-on	41,52	0,06	x	x	keton	[35]
70	<b><math>\alpha</math>-citral</b>	41,72	0,04	x	x	aldehyd	[46]
71	<i>cis</i> -isopiperitenol	40,72	2,66	x		alkohol	[49]
72	<i>trans</i> -isopiperitenol	42,83	0,05	x	x	alkohol	[49]
73	geranylacetát	43,15	0,04		x	ester	[50]
74	dekanol	43,55	0,03		x	alkohol	[34]
75	<b>citronellol</b>	43,80	0,04	x	x	alkohol	[46]
76	methoxy(fenyl)oxim	44,24	0,05	x			[51]
77	perillylaldehyd	44,30	0,02		x	aldehyd	[35]
78	$\alpha$ -felandren-8-ol	44,51	0,05	x	x	alkohol	[52]
79	(1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-2-methylen-5-(1-methylethenyl)-cyklohexanol	45,27	0,04		x	alkohol	[53]
80	<b><i>cis</i>-geraniol</b>	45,52	0,04	x	x	alkohol	[33]

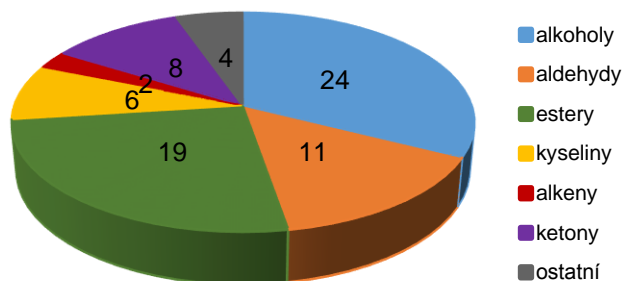
Tabulka 7.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A01 – pokračování

81	tridekan-2-on	45,77	0,04	x	x	keton	[53]
82	isopiperitenon	47,05	0,04		x	keton	[54]
83	cis-carveol 2	47,17	0,04	x	x	alkohol	[46]
84	ethyldodekanoát	47,39	-	x		ester	[46]
85	$\alpha,\alpha,4$ -trimethyl-benzenmethanol	47,80	-	x		alkohol	[55]
86	<b>trans-geraniol</b>	47,83	0,03		x	alkohol	[33]
87	hexanová kyselina	48,32	0,07	x		kyselina	[34]
88	carveol	48,54	0,05	x	x	alkohol	[46]
89	<b>benzylalkohol</b>	49,15	0,03	x	x	alkohol	[46]
90	(1R,5S)- 2-methylen-5-(1-methylethenyl)cyklohexanol 2	49,56	0,04		x	alkohol	*
91	2-fenylethanol	50,55	0,05	x		alkohol	[56]
92	butan-1,4-diol	51,09	-	x		alkohol	*
93	maltol	52,77	-	x		alkohol	[57]
94	2-(4-methylenecyklohexyl)prop-2-en-1-ol	53,91	0,03		x	alkohol	[58]
95	fenol	54,54	0,03	x		alkohol	[40]
96	oktanová kyselina	56,69	0,04	x	x	kyselina	[34]
97	diacetin	56,94	0,02	x	x	ester	[59]
98	$\gamma$ -dekalakton	59,10	0,03	x	x	keton	[60]
99	2-ethylhexyl ester kyseliny benzoové	59,97	0,00	x	x	ester	*
100	nonanová kyselina	60,29	0,03	x	x	kyselina	[34]
101	$\alpha$ -monoacetin	62,02	0,03		x	ester	*
102	1-methyl-4-(1-methylvinyl)cyklohexan-1,2-diol	63,31	0,04		x	alkohol	[60]

\* – látky, které by mohly být pravděpodobně také aromatické, ale nebyly nalezeny v literatuře

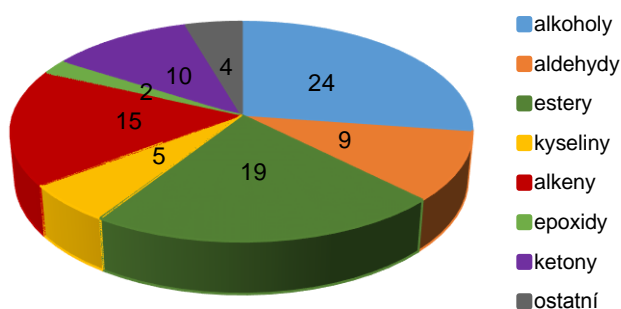
#### 4.1.2 Vzorek A02

V zeleném vzorku A02 bylo identifikováno celkem 74 AAL včetně 8 alergenních. Většinu z nich tvořily alkoholy (24) a estery (19). Poměry jednotlivých funkčních skupin jsou vyobrazeny v Grafu 3.



Graf 3.: Zastoupení jednotlivých skupin ve vzorku A02 (zelená, jablko)

V oranžovém vzorku A02 bylo celkem identifikováno 88 AAL včetně 8 alergenních. Většina těchto látek byla tvořena alkoholy (24) a estery (19). Zastoupení jednotlivých funkčních skupin je zobrazeno v Grafu 4.



Graf 4.: Zastoupení jednotlivých skupin ve vzorku A02 (oranžová, pomeranč)

Chromatogramy obou vzorků A02 jsou součástí přílohy č. 3 a 4. V následující Tabulce 8. jsou uvedeny všechny identifikované AAL ve vzorcích A02.

Tabulka 8.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A02

č.	Látka	R <sub>t</sub> [min]	Relativní odchylka R <sub>t</sub> [%]	Zelený/jablko	Oranžový/pomeranč	Funkční skupina	Odkazy
1	ethylacetát	3,90	0,02	x		ester	[33]
2	methanol	4,03	0,05		x	alkohol	[34]
3	ethanol	4,80	0,01	x	x	alkohol	[34]
4	α-pinen	6,88	0,02		x	alken	[35]
5	ethylbutyrát	7,54	0,02	x	x	ester	[34]
6	ethyl(2-methyl)butanoát	8,02	0,01	x	x	ester	[37]
7	hexanal	9,17	0,00	x	x	aldehyd	[34]
8	β-pinen	9,83	0,01		x	alken	[61]
9	sabinen	10,41	0,04		x	alken	[36]
10	3-methyl-1-butanolacetát	10,62	0,03	x	x	ester	[33]
11	butan-1-ol	11,48	0,01	x	x	alkohol	[34]
12	β-myrcen	12,25	0,04	x	x	alken	[37]
13	pentylacetát	12,68	-	x		ester	[37]
14	2-heptanon	13,05	0,01	x		keton	[34]
15	heptanal	13,20	0,02	x		aldehyd	[34]
16	<b>D-limonen</b>	13,67	0,12	x	x	alken	[39]
17	3-methylbutan-1-ol	14,05	0,03	x		alkohol	[33]
18	2-hexenal	14,64	0,02	x		aldehyd	[62]
19	ethylhexanoát	15,20	0,04	x	x	ester	[34]
20	γ-terpinen	15,62	0,06		x	alken	[35]
21	β-cis-ocimen	15,98	0,04		x	alken	[35]
22	isoamylbutyrát	16,52	0,00		x	ester	[63]
23	o-cymen	16,76	0,03		x	alken	[43]
24	hexylacetát	16,92	0,06	x	x	ester	[33]
25	1-methyl-4-(1-methylethyliden)cyklohexen	17,24	0,04		x	alken	[37]
26	oktanal	17,64	0,03	x	x	aldehyd	[34]

Tabulka 8.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A02 – pokračování

27	<i>cis</i> -3-hexenylacetát	18,85	-		x	ester	[37]
28	(4-hexen-1-ol)acetát	18,85	0,02	x		ester	*
29	4-methyl-2-pentyl-1,3-dioxolan	19,02	0,01	x			[60]
30	hydroxycineol	19,74	-		x	epoxid	[37]
31	6-methylhept-5-en-2-on	19,75	-		x	keton	[37]
32	2-butyl-4-methyl-1,3-dioxolan	20,00	0,01	x			[60]
33	ethylaktát	20,03	0,01		x	ester	[33]
34	hexanol	20,36	0,03	x	x	alkohol	[34]
35	prop-2-enylhexanoát	21,24	0,09		x	ester	[60]
36	heptylacetát	21,33	-	x		ester	[60]
37	<i>cis</i> -3-hexen-1-ol	21,73	0,03	x	x	alkohol	[33]
38	3-oktanol	22,05	-	x		alkohol	[45]
39	nonanal	22,12	0,03	x	x	aldehyd	[34]
40	<i>trans</i> -hex-2-en-1-ol	22,68	0,02		x	alkohol	[50]
41	hexylbutanoát	23,18	0,32		x	ester	[45]
42	3,7-dimethyloktan-3-ol	23,67	0,04	x		alkohol	[60]
43	ethyloktanoát	23,77	0,03	x		ester	[33]
44	4-ethenyl-1,2-dimethyl-benzen	24,07	-		x		*
45	<i>p</i> -cymenen	24,21	-		x		[64]
46	$\alpha$ -kubeben	24,53	0,03		x	alken	*
47	heptan-1-ol	24,68	0,04	x		alkohol	[34]
48	eukalyptol 2	24,75	0,02		x	epoxid	[40]
49	octová kyselina	25,10	0,08	x	x	kyselina	[34]
50	furfural	25,33	0,03	x	x		[40]
51	oktylacetát	25,50	0,03		x	ester	[40]
52	citronellal	25,73	0,02		x	aldehyd	[40]
53	$\alpha$ -kopaen 2	25,98	0,03		x	alken	[35]
54	2-ethyl-hexanol	26,14	0,02	x	x	alkohol	[34]
55	dekanal	26,60	0,03	x	x	aldehyd	[34]

Tabulka 8.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A02 – pokračování

56	benzaldehyd	27,99	0,04	x	x	aldehyd	[33]
57	germakren D	28,25	0,01		x	alken	[36]
58	<b>linalool</b>	29,10	0,04	x	x	alkohol	[33]
59	oktanol	29,60	0,05	x		alkohol	[34]
60	isometholacetát	29,76	-	x		ester	*
61	ethyl ester kyseliny 3-(methylthio)propanové	30,29	0,01	x	x	ester	[46]
62	dimethylsulfoxid	30,48	0,04	x	x		[46]
63	β-kopaen	31,28	0,05		x	alken	*
64	karyofylen	31,62	0,04		x	alken	[35]
65	4-terpineol	32,42	0,05	x	x	alkohol	[35]
66	undekanal	32,60	0,04	x		aldehyd	[34]
67	ethyl-levulinát	33,30	0,05	x		ester	[33]
68	cis-1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyklohex-2-en-1-ol	34,41	0,06	x	x	alkohol	[48]
69	β-terpineol	34,63	0,05		x	alkohol	[46]
70	ethyldekanoát	35,14	0,06	x	x	ester	[33]
71	nonanol	37,09	0,05		x	alkohol	[34]
72	furfurylalkohol	37,34	0,62	x	x	alkohol	[60]
73	cis-1-methyl-4-(1-methylethenyl)cyklohex-2-en-1-ol	37,76	0,03		x	alkohol	[48]
74	<b>β-citral</b>	38,46	0,05	x	x	aldehyd	[46]
75	3-methylbutanoát	38,78	0,05	x	x	ester	[33]
76	α-terpineol	39,56	0,05	x	x	alkohol	[35]
77	1-(fenyl)ethylacetát	39,99	0,02	x	x	ester	[45]
78	eremofilen	40,29	0,05		x	alken	*
79	1-methyl-4-isopropenylcyklohex-6-en-2-on	41,52	0,06		x	keton	[35]
80	<b>α-citral</b>	41,72	0,04	x	x	aldehyd	[46]
81	trans-isopiperitenol	42,83	0,05	x		alkohol	[49]



Tabulka 8.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A02 – pokračování

82	geranylacetát	43,15	0,04		x	ester	[50]
83	pentanová kyselina	43,17	0,05	x		kyselina	[34]
84	dekanol	43,55	0,03		x	alkohol	[34]
85	<b>citronello</b>	43,80	0,04	x	x	alkohol	[46]
86	perillylaldehyd	44,30	0,02	x	x	aldehyd	[35]
87	$\alpha$ -felandren-8-ol	44,51	0,05	x	x	alkohol	[52]
88	<b>cis-geraniol</b>	45,52	0,04	x	x	alkohol	[33]
89	tridekan-2-on	45,77	0,04		x	keton	[53]
90	$\alpha$ -damaskon	45,92	0,01	x	x	keton	[65]
91	$\beta$ -damaskenon	46,24	0,03	x		keton	[33]
92	cis-carveol 2	47,17	0,04		x	alkohol	[46]
93	$\alpha$ -ionon	47,59	0,01		x	keton	[37]
94	<b>trans-geraniol</b>	47,83	0,03	x	x	alkohol	[33]
95	geranyl aceton	47,99	-		x	keton	[49]
96	(4-isopropenyl-1-cyklohexen-1-yl)methylacetát	48,08	0,02		x	ester	[46]
97	hexanová kyselina	48,32	0,07	x	x	kyselina	[34]
98	<b>benzylalkohol</b>	49,15	0,03	x	x	alkohol	[46]
99	methylhexanoát	50,34	0,01	x		ester	[34]
100	dibunol	50,62	0,01	x	x	alkohol	[40]
101	trans- $\beta$ -ionon	51,40	0,01	x	x	keton	[40]
102	heptanová kyselina	52,79	0,02	x	x	kyselina	[34]
103	2-(4-methylenecyklohexyl)prop-2-en-1-ol	53,91	0,03	x	x	alkohol	[58]
104	fenol	54,54	0,03	x	x	alkohol	[40]
105	$\gamma$ -nonanolakton	55,03	0,01	x	x	keton	[46]
106	oktanová kyselina	56,69	0,04	x	x	kyselina	[34]
107	diacetin	56,94	0,02	x	x	ester	[59]
108	methyloktanoát	57,87	-	x		ester	[34]
109	$\gamma$ -dekalakton	59,10	0,03	x	x	keton	[60]

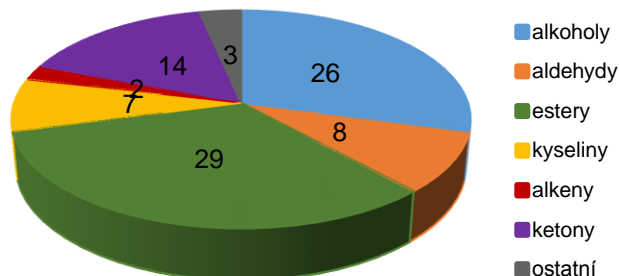
Tabulka 8.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A02 – pokračování

110	nonanová kyselina	60,29	0,03	x	x	kyselina	[34]
111	δ-dekalakton	60,70	0,01	x		keton	[56]
112	γ-undekalakton	62,82	0,02	x	x	keton	[60]

\* – látky, které by mohly být pravděpodobně také aromatické, ale nebyly nalezeny v literatuře

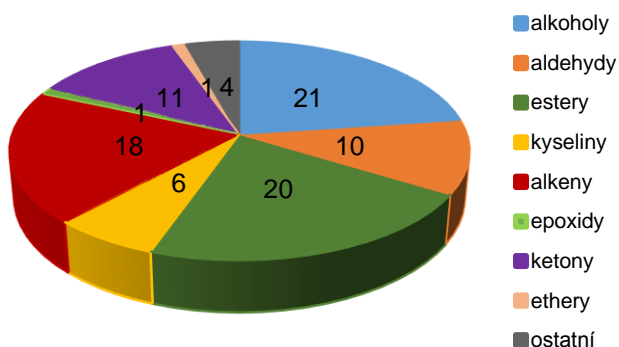
#### 4.1.3 Vzorek A03

V zeleném vzorku A03 bylo identifikováno celkem 90 AAL včetně 8 alergenních. Většinu z nich tvořily estery (29) a alkoholy (26). Podrobnější zastoupení jednotlivých funkčních skupin je zobrazeno v Grafu 5.



Graf 5.: Zastoupení jednotlivých skupin ve vzorku A03 (zelená/jablko)

V oranžovém vzorku A03 bylo identifikováno celkem 92 AAL včetně 8 alergenních. Většinu těchto AAL tvořily estery (20) a alkoholy (21). Podrobnější zastoupení jednotlivých funkčních skupin je zobrazeno v Grafu 6.



Graf 6.: Zastoupení jednotlivých skupin ve vzorku A03 (oranžová/pomeranč)

Chromatogramy obou vzorků A03 jsou součástí přílohy č. 5 a 6. V následující Tabulce 9 jsou uvedeny všechny identifikované AAL ve vzorcích A03.

Tabulka 9.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A03

č.	Látka	R <sub>t</sub> [min]	Relativní odchylka R <sub>t</sub> [%]	Zelený/jablko	Oranžový/pomeranč	Funkční skupina	Odkazy
1	ethanol	4,80	0,01	x	x	alkohol	[34]
2	ethylpropanoát	5,35	-	x		ester	[34]
3	methylbutanoát	6,06	0,01	x	x	ester	[34]
4	α-pinen	6,88	0,02		x	alken	[35]
5	ethylbutyrát	7,54	0,02	x	x	ester	[34]
6	ethyl(2-methyl)butanoát	8,02	0,01	x		ester	[37]
7	α-fenchen	8,30	-		x	alken	[66]
8	isobutanol	9,42	0,00	x	x	alkohol	*
9	β-pinen	9,83	0,01		x	alken	[61]
10	2-propen-1-ol	10,32	-	x		alkohol	*
11	sabinen	10,41	0,04		x	alken	[36]
12	3-methyl-1-butanolacetát	10,62	0,03	x		ester	[33]
13	ethylpentanoát	11,12	0,01	x		ester	[34]
14	1,5,5,6-tetramethylcyklohexa-1,3-dien	11,47	0,02		x	alken	*
15	β-myrcen	12,25	0,04		x	alken	[37]
16	ethyl ester kyseliny but-3-enové	12,31	-	x		ester	[60]
17	2-heptanon	13,05	0,01	x		keton	[34]
18	<b>D-limonen</b>	13,67	0,12	x	x	alken	[39]
19	3-methylbutan-1-ol	14,05	0,03	x		alkohol	[33]
20	Ψ-limonen	14,19	-		x	alken	[67]
21	5-methyl-4-hexen-3-on	14,64	-	x		keton	*
22	1,2,3,5-tetramethylbenzen	15,87	0,06		x		[37]
23	ethylhexanoát	15,20	0,04	x	x	ester	[34]
24	hexyl propyl ester kyseliny šťavelové	15,65	-		x	ester	*
25	β-cis-ocimen	15,98	0,04		x	alken	[35]
26	isoamylbutyrát	16,52	0,00	x		ester	[63]

Tabulka 9.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A03 – pokračování

27	o-cymen	16,76	0,03	x	x	alken	[43]
28	hexylacetát	16,92	0,06	x		ester	[33]
29	1-methyl-4-(1-methylethyliden)cyclohexen	17,24	0,04		x	alken	[37]
30	oktanal	17,64	0,03	x	x	aldehyd	[34]
31	3-methylbutyl ester kyseliny 3-methylbutanové	17,75	0,01	x		ester	*
32	1-hydroxypropan-2-on	18,29	0,01	x		keton	*
33	trans-4,8-dimethylnona-1,3,7-trien	18,35	0,03		x	alken	[44]
34	cis-(3-hexen-1-ol)acetát	18,64	0,24	x		ester	*
35	(4-hexen-1-ol)acetát	18,85	0,02	x	x	ester	*
36	ethylheptanoát	19,49	-	x		ester	[34]
37	4-methyl-2-(1-methylethyl)-thiazol	20,24	0,01	x	x		[60]
38	hexanol	20,36	0,03	x	x	alkohol	[34]
39	prop-2-enylhexanoát	21,24	0,09	x	x	ester	[60]
40	cis-3-hexen-1-ol	21,73	0,03	x	x	alkohol	[33]
41	nonanal	22,12	0,03	x	x	aldehyd	[34]
42	cyklohexanol	22,68	-	x		alkohol	[37]
43	oktan-2-ol	23,16	-	x		alkohol	[34]
44	ethyloktanoát	23,77	0,03	x	x	ester	[33]
45	5-ethenyltetrahydro- $\alpha,\alpha$ -5-trimethyl-2-furanmethanol	24,12	0,10	x	x	alkohol	[50]
46	$\alpha$ -kopaen 1	24,57	0,02		x	alken	[35]
47	eukalyptol 2	24,75	0,02		x	epoxid	[40]
48	octová kyselina	25,10	0,08	x	x	kyselina	[34]
49	furfural	25,33	0,03	x	x		[40]
50	oktylacetát	25,50	0,03		x	ester	[40]
51	citronellal	25,73	0,02		x	aldehyd	[40]
52	$\alpha$ -kopaen 2	25,98	0,03		x	alken	[35]
53	2-ethyl-hexanol	26,14	0,02	x		alkohol	[34]

Tabulka 9.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A03 – pokračování

54	dekanal	26,60	0,03	x	x	aldehyd	[34]
55	1-(2-furanyl)-ethanon	27,11	0,01	x		keton	[68]
56	2-bornanon	27,26	-	x		keton	[46]
57	ethyl ester kyseliny 3-hydroxybutanové	27,57	-	x		ester	[46]
58	benzaldehyd	27,99	0,04	x	x	aldehyd	[33]
59	germakren D	28,25	0,01		x	alken	[36]
60	<b>linalool</b>	29,10	0,04	x	x	alkohol	[33]
61	oktylformiát	29,62	0,00	x	x	ester	[59]
62	dimethylsulfoxid	30,48	0,04	x	x		[46]
63	1-(2-furanyl)-propan-1-on	30,98	-	x		keton	*
64	diethylmalonát	31,17	0,00	x	x	ester	[46]
65	β-kopaen	31,28	0,05		x	alken	*
66	karyofylen	31,62	0,04		x	alken	[35]
67	4-terpineol	32,42	0,05	x	x	alkohol	[35]
68	undekanal	32,60	0,04		x	aldehyd	[34]
69	ethyl-levulinát	33,30	0,05	x	x	ester	[46]
70	cis-1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyklohex-2-en-1-ol	34,41	0,06	x	x	alkohol	[48]
71	β-terpineol	34,63	0,05		x	alkohol	[46]
72	ethyldekanoát	35,14	0,06	x	x	ester	[33]
73	dek-2-enal	35,67	0,01		x	aldehyd	[50]
74	butanová kyselina	35,92	0,06	x	x	kyselina	[34]
75	isoleiden	36,62	-		x	alken	*
76	nonanol	37,09	0,05		x	alkohol	[34]
77	cis-β-farnesen	37,35	-		x	alken	*
78	furfurylalkohol	37,34	0,62	x	x	alkohol	[60]
79	<b>β-citral</b>	38,46	0,05	x	x	aldehyd	[46]
80	3-methylbutanoát	38,78	0,05	x	x	ester	[33]
81	α-terpineol	39,56	0,05	x	x	alkohol	[35]

Tabulka 9.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A03 – pokračování

82	1-(fenyl)ethylacetát	39,99	0,02	x	x	ester	[45]
83	dodekanal	40,35	-	x		aldehyd	[40]
84	methyl ester kyseliny 2-methylpropanové	40,60	-	x		ester	[40]
85	1-methyl-4-isopropenylcylohex-6-en-2-on	41,52	0,06		x	keton	[35]
86	<b>α-citral</b>	41,72	0,04	x	x	aldehyd	[46]
87	<i>cis</i> -isopiperitenol	40,72	2,66	x		alkohol	[49]
88	<i>trans</i> -isopiperitenol	42,83	0,05	x		alkohol	[49]
89	pentanová kyselina	43,17	0,05	x	x	kyselina	[34]
90	dekanol	43,55	0,03		x	alkohol	[34]
91	<b>citronello</b>	43,80	0,04	x	x	alkohol	[46]
92	1,5-dimethyl-1H-pyrrol-2-karbonitril	44,01	-		x		[52]
93	perillylaldehyd	44,30	0,02	x	x	aldehyd	[35]
94	benzyl ester kyseliny 2-methylpropanové	44,49	0,00	x	x	ester	[59]
95	(1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-2-methylen-5-(1-methylethenyl)-cyklohexanol	45,27	0,04		x	alkohol	[59]
96	<b><i>cis</i>-geraniol</b>	45,52	0,04	x	x	alkohol	[33]
97	tridekan-2-on	45,77	0,04		x	keton	[59]
98	α-damaskon	45,92	0,01	x	x	keton	[65]
99	1-fenylethanol	46,22	0,01	x	x	alkohol	[40]
100	anethol	46,78	0,01	x	x	ether	[45]
101	isopiperitenon	47,05	0,04		x	keton	[54]
102	<i>cis</i> -carveol 2	47,17	0,04	x	x	alkohol	[46]
103	α-ionon	47,59	0,01	x	x	keton	[37]
104	<b><i>trans</i>-geraniol</b>	47,83	0,03	x	x	alkohol	[33]
105	(4-isopropenyl-1-cyklohexen-1-yl)methylacetát	48,08	0,02		x	ester	[40]
106	hexanová kyselina	48,32	0,07	x	x	kyselina	[34]
107	<b>benzylalkohol</b>	49,15	0,03	x	x	alkohol	[46]

Tabulka 9.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A03 – pokračování

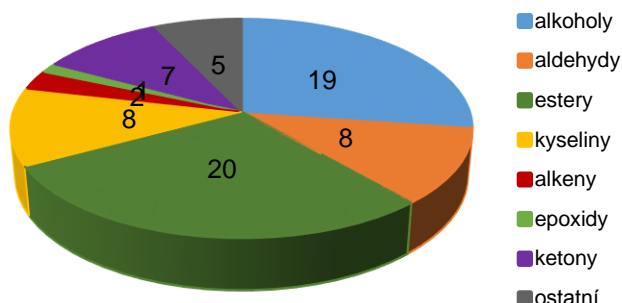
108	(1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )- 2-methylen-5-(1-methylethenyl)cyklohexanol 2	49,56	0,04		x	alkohol	*
109	methylhexanoát	50,34	0,01	x		ester	[34]
110	γ-oktalakton	50,62	0,02	x	x	keton	[56]
111	<i>trans</i> -β-ionon	51,40	0,01	x	x	keton	[40]
112	2-acetylphenyl ester kyseliny 2-ethylbutanové	51,86	-	x		ester	*
113	heptanová kyselina	52,79	0,02	x	x	kyselina	[34]
114	2-(4-methylenecyklohexyl)prop-2-en-1-ol	53,91	0,03	x	x	alkohol	[58]
115	fenol	54,54	0,03	x		alkohol	[40]
116	γ-nonanolakton	55,03	0,01	x	x	keton	[46]
117	methyl ester kyseliny 2-(methylamino)benzoové	56,65	-		x	ester	[37]
118	oktanová kyselina	56,69	0,04	x		kyselina	[34]
119	diacetin	56,94	0,02	x		ester	[59]
120	triacetin	56,99	0,02		x	ester	[69]
121	3-methylbutyl ester kyseliny 2-hydroxybenzoové	57,68	-		x	ester	[45]
122	γ-dekalakton	59,10	0,03	x	x	keton	[60]
123	<b>eugenol</b>	60,02	0,01	x		alkohol	[33]
124	nonanová kyselina	60,29	0,03	x	x	kyselina	[34]
125	δ-dekalakton	60,70	0,01	x	x	keton	[56]
126	α-monoacetin	62,02	0,03	x	x	ester	*
127	γ-undekalakton	62,82	0,02	x	x	keton	[60]

\* – látky, které by mohly být pravděpodobně také aromatické, ale nebyly nalezeny v literatuře



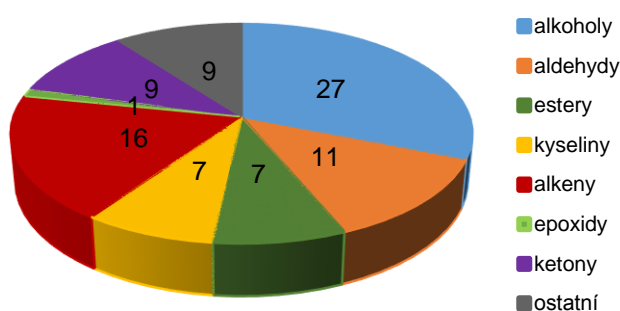
#### 4.1.4 Vzorek A04

V zeleném vzorku A04 bylo identifikováno celkem 70 AAL včetně 7 alergenních. Většinu z nich tvořily estery (20) a alkoholy (19). Podrobnější zastoupení jednotlivých funkčních skupin je zobrazeno v Grafu 7.



Graf 7.: Zastoupení jednotlivých skupin ve vzorku A04 (zelená/jablko)

V oranžovém vzorku A04 bylo identifikováno celkem 87 AAL včetně 8 alergenních. Většinu z nich tvořily alkoholy (27) a alkeny (17). Podrobnější zastoupení jednotlivých funkčních skupin je zobrazeno v Grafu 8.



Graf 8.: Zastoupení jednotlivých skupin ve vzorku A04 (oranžová/pomeranč)

Chromatogramy obou vzorků A04 jsou součástí přílohy č. 7 a 8. V následující Tabulce 10. jsou uvedeny všechny identifikované AAL ve vzorcích A04.

Tabulka 10.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A04

č.	Látka	R <sub>t</sub> [min]	Relativní odchylka R <sub>t</sub> [%]	Zelený/jablko	Oranžový/pomeranč	Funkční skupina	Odkazy
1	methanol	4,03	0,05	x	x	alkohol	[34]
2	ethanol	4,80	0,01	x	x	alkohol	[34]
3	α-pinen	6,88	0,02		x	alken	[35]
4	ethylbutyrát	7,54	0,02	x		ester	[34]
5	ethyl(2-methyl)butanoát	8,02	0,01	x		ester	[37]
6	diethyl ester kyseliny aminopropandiové	8,36	-	x		ester	*
7	ethyl ester kyseliny 3-methylbutanové	8,58	-	x		ester	*
8	butylacetát	8,76	0,04	x		ester	[34]
9	hexanal	9,17	0,00	x		aldehyd	[34]
10	β-pinen	9,83	0,01		x	alken	[61]
11	sabinen	10,41	0,04		x	alken	[36]
12	3-methyl-1-butanolacetát	10,62	0,03	x		ester	[33]
13	ethylpentanoát	11,12	0,01	x		ester	[34]
14	butan-1-ol	11,48	0,01	x	x	alkohol	[34]
15	β-myrcen	12,25	0,04	x	x	alken	[37]
16	heptanal	13,20	0,02	x		aldehyd	[34]
17	<b>D-limonen</b>	13,67	0,12	x	x	alken	[39]
18	eukalyptol	13,84	0,04	x		epoxid	[40]
19	3-methylbutan-1-ol	14,05	0,03	x		alkohol	[33]
20	β-felandren	14,47	0,02		x	alken	[35]
21	2-hexenal	14,64	0,02	x		aldehyd	[62]
22	1,2,3,5-tetramethylbenzen	15,87	0,06		x		[37]
23	ethylhexanoát	15,20	0,04	x		ester	[34]
24	γ-terpinen	15,62	0,06		x	alken	[35]
25	β-cis-ocimen	15,98	0,04		x	alken	[35]
26	ethylpyrazin	16,57	-		x		[70]

Tabulka 10.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A04 – pokračování

27	o-cymen	16,76	0,03		x	alken	[43]
28	hexylacetát	16,92	0,06	x		ester	[33]
29	trimethylbicyklo[4.1.0]hept-2-en	17,30	-		x	alken	[35]
30	oktanal	17,64	0,03	x	x	aldehyd	[34]
31	3-methylbutyl ester kyseliny 3-methylbutanové	17,75	0,01	x		ester	*
32	1-hydroxypropan-2-on	18,29	0,01	x		keton	*
33	trans-4,8-dimethylnona-1,3,7-trien	18,35	0,03		x	alken	[44]
34	(4-hexen-1-ol)acetát	18,85	0,02	x		ester	*
35	4-methyl-2-pentyl-1,3-dioxolan	19,02	0,01	x			[60]
36	2-ethyl-4-methylthiazol	19,91	0,00	x	x		[40]
37	ethylaktát	20,03	0,01	x	x	ester	[33]
38	hexanol	20,36	0,03	x	x	alkohol	[34]
39	trans-hex-3-en-1-ol	20,85	-		x	alkohol	[33]
40	2,6-dimethyloktan-2,4,6-trien	21,25	0,01		x	alken	[71]
41	cis-hex-3-en-1-ol	21,73	0,03	x	x	alkohol	[33]
42	nonanal	22,12	0,03		x	aldehyd	[34]
43	trans-hex-2-en-1-ol	22,68	0,02	x	x	alkohol	[50]
44	3-(4-methylpent-3-enyl)-furan	23,28	0,01		x		*
45	oktylformiát	23,58	-		x	ester	*
46	3,7-dimethyloktan-3-ol	23,67	0,04	x		alkohol	[60]
47	2-ethoxy-thiazol	23,68	-	x			*
48	ethyloktanoát	23,77	0,03	x	x	ester	[33]
49	1-methyl-3-(1-methylethenyl)-benzen	24,04	0,03		x		*
50	5-ethenyltetrahydro- $\alpha,\alpha$ -5-trimethyl-2-furanmethanol	24,12	0,10		x		[50]
51	$\alpha$ -kopaen 1	24,57	0,02		x	alken	[35]
52	heptylformiát	24,70	0,00	x		ester	[40]
53	heptan-1-ol	24,68	0,04		x	alkohol	[34]

Tabulka 10.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A04 – pokračování

54	eukalyptol 2	24,75	0,02		x	epoxid	[40]
55	octová kyselina	25,10	0,08	x	x	kyselina	[34]
56	furfural	25,33	0,03	x	x		[40]
57	oktylacetát	25,50	0,03		x	ester	[40]
58	citronellal	25,73	0,02		x	aldehyd	[40]
59	$\alpha$ -kopaen 2	25,98	0,03		x	ester	[35]
60	2-ethyl-hexanol	26,14	0,02	x		alkohol	[34]
61	dekanal	26,60	0,03	x	x	aldehyd	[34]
62	butyl-laktát	27,79	-	x		ester	[46]
63	benzaldehyd	27,99	0,04	x	x	aldehyd	[33]
64	1-isopropyl-4-methyl-7-methylen- 1,2,3,4,4a,5,6,7-oktahydronaftalen	28,24	0,06		x		*
65	<b>linalool</b>	29,10	0,04	x	x	alkohol	[33]
66	propanová kyselina	29,43	-	x		kyselina	[34]
67	oktanol	29,60	0,05		x	alkohol	[34]
68	dimethylsulfoxid	30,48	0,04	x	x	alkohol	[46]
69	butan-2,3-diol	31,00	0,02	x	x	alkohol	[33]
70	$\beta$ -kopaen	31,28	0,05		x	alken	*
71	2-methylpropanoát	31,35	-	x		ester	[33]
72	karyofylen	31,62	0,04		x	alken	[35]
73	4-terpineol	32,42	0,05	x	x	alkohol	[35]
74	undekanal	32,60	0,04		x	aldehyd	[34]
75	$\gamma$ -valerolakton	33,29	-	x		keton	[46]
76	ethyl ester kyseliny 2,4-dimethyl-1,3- dioxolan-2-octové	33,88	0,01	x	x	ester	[60]
77	<i>trans</i> -dihydrokarvon	34,07	0,10		x	keton	[47]
78	<i>cis</i> -1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyklohex-2- en-1-ol	34,41	0,06		x	alkohol	[48]

Tabulka 10.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A04 – pokračování

79	ethyl ester kyseliny 2,4-dimethyl-1,3-dioxolan-2-octové 2	34,77	0,00	x	x	ester	[72]
80	ethyldekanoát	35,14	0,06	x		ester	[33]
81	dek-2-enal	35,67	0,01		x	aldehyd	[50]
82	butanová kyselina	35,92	0,06	x	x	kyselina	[34]
83	nonanol	37,09	0,05		x	alkohol	[34]
84	furfurylalkohol	37,34	0,62	x	x	alkohol	[60]
85	cis-1-methyl-4-(1-methylethenyl)cyklohex-2-en-1-ol	37,76	0,03		x	alkohol	[48]
86	<b>β-citral</b>	38,46	0,05	x	x	aldehyd	[46]
87	2-methyl-hexanoát	38,84	-	x		ester	*
88	dek-9-enová kyselina	38,96	-		x	kyselina	[40]
89	α-terpinylacetát	39,30	-		x	ester	[35]
90	α-terpineol	39,56	0,05	x	x	alkohol	[35]
91	eremofilen	40,29	0,05		x	alken	*
92	1-methyl-4-isopropenylcyklohex-6-en-2-on	41,52	0,06		x	keton	[35]
93	<b>α-citral</b>	41,72	0,04	x	x	aldehyd	[46]
94	pentanová kyselina	43,17	0,05	x	x	kyselina	[34]
95	<b>citronellol</b>	43,80	0,04		x	alkohol	[46]
96	perillylaldehyd	44,30	0,02		x	aldehyd	[35]
97	α-felandren-8-ol	44,51	0,05	x		alkohol	[52]
98	(1R,5S)-2-methylen-5-(1-methylethenyl)-cyklohexanol	45,27	0,04		x	alkohol	[59]
99	<b>cis-geraniol</b>	45,52	0,04		x	alkohol	[33]
100	tridekan-2-on	45,77	0,04		x	keton	[59]
101	β-damaskenon	46,24	0,03	x	x	keton	[33]
102	isopiperitenon	47,05	0,04		x	keton	[54]
103	cis-carveol 2	47,17	0,04	x	x	alkohol	[46]
104	<b>trans-geraniol</b>	47,83	0,03	x	x	alkohol	[33]

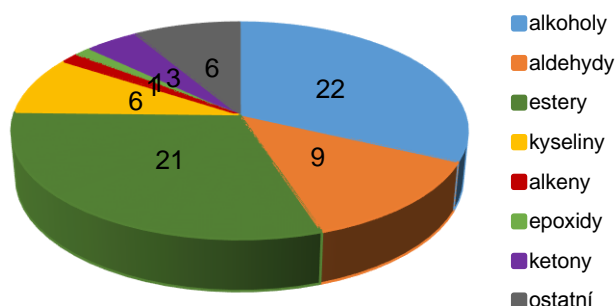
Tabulka 10.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A04 – pokračování

105	4-isopropenyl-1-cyklohexen-1-yl)methylacetát	48,08	0,02		x	ester	[40]
106	2-pentylnon-2-enal	48,26	0,01		x	aldehyd	*
107	hexanová kyselina	48,32	0,07	x	x	kyselina	[34]
108	carveol	48,54	0,05		x	alkohol	[48]
109	<b>benzylalkohol</b>	49,15	0,03	x	x	alkohol	[46]
110	(1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )- 2-methylen-5-(1-methylethenyl)cyklohexanol 2	49,56	0,04		x	alkohol	[59]
111	γ-oktalakton	50,62	0,02	x	x	keton	[56]
112	heptanová kyselina	52,79	0,02	x	x	kyselina	[34]
113	2-(4-methylenecyklohexyl)prop-2-en-1-ol	53,91	0,03		x	alkohol	[58]
114	γ-nonanolakton	55,03	0,01	x	x	keton	[46]
115	oktanová kyselina	56,69	0,04	x	x	kyselina	[34]
116	triacetin	56,99	0,02	x		ester	[69]
117	γ-dekalakton	59,10	0,03	x	x	keton	[60]
118	<b>eugenol</b>	60,02	0,01	x	x	alkohol	[33]
119	nonanová kyselina	60,29	0,03	x		kyselina	[34]
120	γ-undekalakton	62,82	0,02	x	x	keton	[60]
121	1-methyl-4-(1-methylvinyl)cyklohexan-1,2-diol	63,31	0,04		x	alkohol	[60]

\* – látky, které by mohly být pravděpodobně také aromatické, ale nebyly nalezeny v literatuře

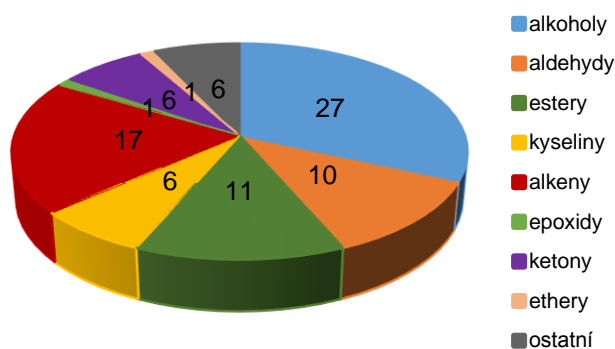
#### 4.1.5 Vzorek A05

V zeleném vzorku A05 bylo identifikováno celkem 69 AAL včetně 6 alergenních. Většinu z nich tvořily alkoholy (22) a estery (21). Podrobnější zastoupení jednotlivých funkčních skupin je zobrazeno v Grafu 9.



Graf 9.: Zastoupení jednotlivých skupin ve vzorku A05 (zelená/jablko)

V oranžovém vzorku A05 bylo identifikováno celkem 85 AAL včetně 8 alergenních. Většinu z nich tvořily alkoholy (27) a alkeny (17). Podrobnější zastoupení jednotlivých funkčních skupin je zobrazeno v Grafu 10.



Graf 10.: Zastoupení jednotlivých skupin ve vzorku A05 (oranžová/pomeranč)

Chromatogramy obou vzorků A05 jsou součástí přílohy č. 9 a 10. V následující Tabulce 11. jsou uvedeny všechny identifikované AAL ve vzorcích A04.

Tabulka 11.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A05

č.	Látka	R <sub>t</sub> [min]	Relativní odchylka R <sub>t</sub> [%]	Zelený/jablko	Oranžový/pomeranč	Funkční skupina	Odkazy
1	methanol	4,03	0,05	x		alkohol	[34]
2	ethanol	4,80	0,01	x	x	alkohol	[34]
3	n-propylacetát	5,79	-	x		ester	[34]
4	α-pinen	6,88	0,02		x	alken	[35]
5	ethylbutyrát	7,54	0,02	x	x	ester	[34]
6	butylacetát	8,76	0,04	x	x	ester	[34]
7	hexanal	9,17	0,00	x		aldehyd	[34]
8	sabinen	10,41	0,04		x	alken	[36]
9	3-methyl-1-butanolacetát	10,62	0,03	x		ester	[33]
10	butan-1-ol	11,48	0,01	x	x	alkohol	[34]
11	β-myrcen	12,25	0,04		x	alken	[37]
12	heptanal	13,20	0,02	x		aldehyd	[34]
13	3-methylbutyl ester kyseliny 2-methylpropanové	13,42	-	x		ester	[59]
14	3-methylhexanal	13,46	-	x		aldehyd	[73]
15	<b>D-limonen</b>	13,67	0,12	x	x	alken	[39]
16	eukalyptol	13,84	0,04	x		epoxid	[40]
17	2-methylbutan-1-ol	14,05	-	x		alkohol	[34]
18	β-phelandren	14,47	0,02		x	alken	[35]
19	butylbutanoát	14,51	-	x		ester	[34]
20	ethylhexanoát	15,20	0,04	x	x	ester	[34]
21	γ-terpinen	15,62	0,06		x	alken	[35]
22	3,5-dimethylanisol	15,72	-		x	ether	*
23	1,4-diethyl-benzen	15,88	-		x		[74]
24	β-cis-ocimen	15,98	0,04		x	alken	[35]
25	o-cymen	16,76	0,03		x	alken	[43]
26	hexylacetát	16,92	0,06	x	x	ester	[33]



Tabulka 11.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A05 – pokračování

27	1-methyl-4-(1-methylethyliden)cyclohexen	17,24	0,04		x	alken	[37]
28	$\alpha$ -terpinen	17,51	-		x	alken	[35]
29	oktanal	17,64	0,03		x	aldehyd	[34]
30	<i>trans</i> -4,8-dimethylnona-1,3,7-trien	18,35	0,03		x	alken	[44]
31	4-methyl-2-pentyl-1,3-dioxolan	19,27	0,50	x	x		[60]
32	3,7,7-trimethylcyklohepta-1,3,5-trien	19,03	-		x	alken	[75]
33	2-butyl-4-methyl-1,3-dioxolan	20,00	0,01	x			[60]
34	hexanol	20,36	0,03	x	x	alkohol	[34]
35	2,6-dimethylokta-2,4,6-trien	21,25	0,01		x	alken	[71]
36	<i>cis</i> -3-hexen-1-ol	21,73	0,03	x	x	alkohol	[33]
37	nonanal	22,12	0,03	x	x	aldehyd	[34]
38	hexylbutanoát	23,18	0,32	x		ester	[45]
39	propyl ester kyseliny 2-methylpropanové	22,98	-	x		ester	[44]
40	3-(4-methylpent-3-enyl)- furan	23,28	0,01		x		*
41	ethyl oktanoát	23,77	0,03	x		ester	[33]
42	1-methyl-3-(1-methylethenyl)-benzen	24,04	0,03		x		*
43	$\alpha$ -kubeben	24,53	0,03		x	alken	*
44	okt-1-en-3-ol	24,53	-	x		alkohol	[76]
45	heptylformiát	24,70	0,00	x		ester	[40]
46	eukalyptol 2	24,75	0,02		x	epoxid	[40]
47	octová kyselina	25,10	0,08	x	x	kyselina	[34]
48	furfural	25,33	0,03	x	x		[40]
49	oktylacetát	25,50	0,03		x	ester	[40]
50	2-propylhept-2-enal	25,63	-	x		aldehyd	*
51	citronellal	25,73	0,02		x	aldehyd	[40]
52	$\alpha$ -kopaen 2	25,98	0,03		x	alken	[35]
53	dekanal	26,60	0,03	x	x	aldehyd	[34]
54	vanilín	27,00	-	x		aldehyd	[33]
55	1-(2-furanyl)-ethanon	27,11	0,01	x	x	keton	[68]

Tabulka 11.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A05 – pokračování

56	benzaldehyd	27,99	0,04	x	x	aldehyd	[33]
57	<b>linalool</b>	29,10	0,04	x	x	alkohol	[33]
58	oktanol	29,60	0,05	x	x	alkohol	[34]
59	isopulegol	30,30	0,07		x	alkohol	[45]
60	dimethylsulfoxid	30,48	0,04	x	x		[46]
61	butan-2,3-diol	31,00	0,02	x	x	alkohol	[33]
62	fenchol	31,17	0,08	x		alkohol	[46]
63	$\beta$ -kopaen	31,28	0,05		x	alken	*
64	karyofylen	31,62	0,04		x	alken	[35]
65	4-terpineol	32,42	0,05	x	x	alkohol	[35]
66	undekanal	32,60	0,04		x	aldehyd	[34]
67	3,7,7-trimethylbicyklo[4.1.0]heptan-2-on	34,12	-		x	keton	*
68	cis-1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyklohex-2-en-1-ol	34,41	0,06	x	x	alkohol	[48]
69	$\beta$ -terpineol	34,63	0,05		x	alkohol	[46]
70	ethyldekanoát	35,14	0,06		x	ester	[33]
71	butanová kyselina	35,92	0,06	x	x	kyselina	[34]
72	furfurylalkohol	37,34	0,62	x	x	alkohol	[60]
73	<b><math>\beta</math>-citrál</b>	38,46	0,05	x	x	aldehyd	[46]
74	2-methyl-butanoát	38,85	-	x		ester	[34]
75	cis-carveol	38,91	0,06		x	alkohol	[48]
76	$\alpha$ -terpineol	39,56	0,05	x	x	alkohol	[35]
77	1-(fenyl)ethylacetát	39,99	0,02	x	x	ester	[45]
78	1-fenylethanol	40,01	-		x	alkohol	[40]
79	1-methyl-4-isopropenylcyklohex-6-en-2-on	41,52	0,06		x	keton	[35]
80	fenylmethyl ester kyseliny octové	41,66	-	x		ester	[77]
81	<b><math>\alpha</math>-citrál</b>	41,72	0,04		x	aldehyd	[46]
82	trans-isopiperitenol	42,83	0,05		x	alkohol	[49]
83	pentanová kyselina	43,17	0,05	x	x	kyselina	[34]

Tabulka 11.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A05 – pokračování

84	<b>citronello</b>	43,80	0,04	x	x	alkohol	[46]
85	methoxy(fenyl)oxim	44,24	0,05	x			[51]
86	perillylaldehyd	44,30	0,02		x	aldehyd	[35]
87	$\alpha$ -felandren-8-ol	44,51	0,05	x	x	alkohol	[52]
88	(1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-2-methylen-5-(1-methylethenyl)-cyklohexanol	45,27	0,04		x	alkohol	[59]
89	<b>cis-geraniol</b>	45,52	0,04		x	alkohol	[33]
90	tridekan-2-on	45,77	0,04	x	x	keton	[59]
91	isopiperitenon	47,05	0,04		x	keton	[54]
92	<i>cis</i> -carveol 2	47,17	0,04	x	x	alkohol	[46]
93	4-methyl-2-fenyl-1,3-dioxolan	47,46	-	x			[46]
94	<b>trans-geraniol</b>	47,83	0,03		x	alkohol	[33]
95	4-isopropenyl-1-cyklohexen-1-yl)methylacetát	48,08	0,02		x	ester	[46]
96	2-pentylnon-2-enal	48,26	0,01		x	aldehyd	*
97	hexanová kyselina	48,32	0,07	x	x	kyselina	[34]
98	carveol	48,54	0,05		x	alkohol	[48]
99	<b>benzylalkohol</b>	49,15	0,03	x	x	alkohol	[46]
100	(1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )- 2-methylen-5-(1-methylethenyl)cyklohexanol 2	49,56	0,04		x	alkohol	*
101	2-fenylethanol	50,55	0,05	x	x	alkohol	[56]
102	heptanová kyselina	52,79	0,02	x	x	kyselina	[34]
103	2-(4-methylenecyklohexyl)prop-2-en-1-ol	53,91	0,03		x	alkohol	[58]
104	oktanová kyselina	56,69	0,04		x	kyselina	[34]
105	triacetin	56,99	0,02	x	x	ester	[69]
106	nonyl ester kyseliny 2,2-dimethylpropanové	57,71	-	x		ester	*
107	$\gamma$ -dekalakton	59,10	0,03	x	x	keton	[60]
108	<b>eugenol</b>	60,02	0,01	x	x	alkohol	[33]
109	nonanová kyselina	60,29	0,03	x		kyselina	[34]

Tabulka 11.: Identifikované těkavé látky ve vzorcích A05 – pokračování

110	methylnhexadekanoát	61,38	0,01	x	x	ester	[78]
111	tridekan-7-ol	61,80	-	x		alkohol	*
112	$\alpha$ -monoacetin	62,02	0,03	x	x	ester	*
113	pentyl ester kyseliny 2-methylbutanové	62,34	-	x		ester	*
114	1-methyl-4-(1-methylvinyl)cyklohexan-1,2-diol	63,31	0,04		x	alkohol	[60]
115	pentyl ester kyseliny 2-methylbutanové 2	64,17	-	x		ester	*

\* – látky, které by mohly být pravděpodobně také aromatické, ale nebyly nalezeny v literatuře

## 4.2 Srovnání identifikovaných sloučenin ve vzorcích od různých výrobců

Hlavním cílem této práce bylo posoudit rozdíly v obsahu AAL mezi vzorky stejného typu od různých výrobců. V následující Tabulce 12. a 13. je uvedeno porovnání obsahu AAL mezi vzorky. Přestože se pro výrobu používají z velké části stejné suroviny (viz Tabulka 6), z výsledků jsou patrné rozdíly mezi vzorky od jednotlivých výrobců. Nejvíce identifikovaných sloučenin bylo ve vzorku A03, což bylo způsobeno především vysokým počtem identifikovaných esterů a alkoholů, naopak nejméně sloučenin bylo ve vzorku A01 díky nízkému počtu identifikovaných esterů a ketonů.

Tabulka 12.: Zastoupení jednotlivých chemických skupin v zelených/jablečných vzorcích

	Vzorek A01	Vzorek A02	Vzorek A03	Vzorek A04	Vzorek A05
Alkoholy	25	24	26	19	22
Estery	12	19	29	20	21
Alkeny	4	2	2	2	1
Aldehydy	4	11	8	8	9
Ketony	4	8	14	7	3
Karbox. kyseliny	4	6	7	8	6
Epoxidy	2	-	-	1	1
Ethery	-	-	1	-	-
Ostatní	3	4	3	5	6
Celkem	58	74	90	70	69

Tabulka 13.: Zastoupení jednotlivých chemických skupin v oranžových/pomerančových vzorcích

	Vzorek A01	Vzorek A02	Vzorek A03	Vzorek A04	Vzorek A05
Alkoholy	27	24	21	27	27
Estery	11	19	20	7	11
Alkeny	17	15	18	16	17
Aldehydy	8	9	10	11	10
Ketony	6	10	11	9	6
Karbox. kyseliny	3	5	6	7	6
Epoxidy	1	2	1	1	1
Ethery	-	-	1	-	1
Ostatní	4	4	4	9	6
Celkem	77	88	92	87	85

## 4.3 Srovnání identifikovaných sloučenin v obou příchutích

Dalším z cílů této práce bylo posoudit rozdíly v obsahu AAL mezi oběma příchutěmi, tj. jablko vs. pomeranč. Tyto rozdíly jsou shrnuty v Tabulkách 14. až 16. Z výsledků je patrné, že v oranžových vzorcích bylo identifikováno výrazně více sloučenin, než v zelených, a to u všech výrobců, což je způsobeno hlavně vyšším počtem identifikovaných alkenů.

Jak již bylo zmíněno, následující experimenty budou zaměřeny především na výběr a ověření vhodné metody kvantifikace, za účelem možnosti posouzení nejen počtu, ale i obsahu identifikovaných sloučenin ve vzorcích.

Tabulka 14.: Srovnání zastoupení jednotlivých chemických skupin AAL mezi příchutěmi vzorku A01 a A02

	Vzorek A01		Vzorek A02	
	zelený/jablko	oranžový/pomeranč	zelený/jablko	oranžový/pomeranč
Alkoholy	25	27	24	24
Estery	12	11	19	19
Alkeny	4	17	2	15
Aldehydy	4	8	11	9
Ketony	4	6	8	10
Karbox. kyseliny	4	3	6	5
Epoxidy	2	1	-	2
Ethery	-	-	-	-
Ostatní	3	4	4	4
Celkem	<b>58</b>	<b>77</b>	<b>74</b>	<b>88</b>

Tabulka 15.: Srovnání zastoupení jednotlivých chemických skupin AAL mezi příchutěmi vzorku A03 a A04

	Vzorek A03		Vzorek A04	
	zelený/jablko	oranžový/pomeranč	zelený/jablko	oranžový/pomeranč
Alkoholy	26	21	19	27
Estery	29	20	20	7
Alkeny	2	18	2	16
Aldehydy	8	10	8	11
Ketony	14	11	7	9
Karbox. kyseliny	7	6	8	7
Epoxidy	-	1	1	1
Ethery	1	1	-	-
Ostatní	3	4	5	9
Celkem	<b>90</b>	<b>92</b>	<b>70</b>	<b>87</b>

Tabulka 16.: Srovnání zastoupení jednotlivých chemických skupin AAL mezi příchutěmi vzorku A05

	Vzorek A05	
	zelený/jablko	oranžový/pomeranč
Alkoholy	22	27
Estery	21	11
Alkeny	1	17
Aldehydy	9	10
Ketony	3	6
Karbox. kyseliny	6	6
Epoxidy	1	1
Ethery	-	1
Ostatní	6	6
Celkem	<b>69</b>	<b>85</b>

#### 4.4 Identifikace a kvantifikace alergenních aromaticky aktivních látek ve vzorcích

Jak již bylo zmíněno, problematika aromatických látek s alergenními účinky je v současné době velmi aktuální a je žádoucí se jimi zabývat i v oblasti potravin; zvláště to platí v případě výrazně aromatizovaných pochutin, které často konzumují i malé děti. Proto jim byla věnována také speciální pozornost ve vzorcích želé cukrovinek.

Všechny dostupné standardy alergenů byly podrobeny kalibraci, dále byla určena mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ). Z kalibračních křivek závislosti plochy píků na koncentraci standardu byla určena linearita a koeficient determinace ( $R^2$ ). Z každého standardu byla vybrána koncentrace, jejíž pík nejvíce splňoval vlastnosti "ideálního" piku (symetrický, tvar Gaussovy křivky), tento pak byl použit pro kvantifikaci. Výsledné hodnoty těchto parametrů jsou zobrazeny v Tabulce 17. a 18.

Alergeny ve vzorcích byly identifikovány na základě srovnání hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou spekter a kvantifikovány metodou přímého srovnání zvolené koncentrace standardu, jeho plochy s plochou identifikovaného alergenu ve vzorku. Výsledky jsou uvedeny Tabulce 19. a Tabulce 20. Jelikož není množství těchto alergenních látek v potravinách řízeno potravinářskou legislativou, pro jakési hrubé přiblížení a posouzení možných nežádoucích účinků byla v této práci zvolena jako limitní koncentrace stanovená kosmetickou legislativou pro prostředky, které se neoplachují ( $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Jak lze vidět v Tabulkách 19. a 20., byla tato koncentrace u některých AAL (konkrétně D-limonen a benzylalkohol) poměrně výrazně překročena; kromě zelených A01 a A02 u všech vzorků min. v jednom případě. Ve vzorcích bylo identifikováno celkem 8 alergenních látek, koncentrace přesahující limit jsou v tabulkách označeny tučně.

Vzhledem k tomu, že o možných účincích sledovaných alergenů na lidský organismus po konzumaci je známo jen velmi málo, i při překročení uvedené koncentrace se lze pouze dohadovat o jejich negativním působení. Nicméně jedná se o látky potenciálně nebezpečné pro citlivé jedince a z hlediska bezpečnosti potravin/pochutin jim bude věnována pozornost v rámci dalšího zkoumání.

Tabulka 17.: Validované parametry metody HS-SPME-GC/MS

Sloučenina	$R_t$ [min]	$R^2$	Lineární rozsah [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	LOD [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	LOQ [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]
D-limonen	13,58	0,9946	0,001-100	0,001	0,003
linalool	29,19	0,9982	0,00001-100	0,00001	0,00003
$\beta$ -citral	38,52	0,9793	0,01-50	0,01	0,03
$\alpha$ -citral	41,79	0,9793	0,01-50	0,01	0,03
$\beta$ -citronellol	44,04	0,9998	0,001-10	0,001	0,003
geraniol	47,96	0,9823	0,00001-10	0,00001	0,00003
benzylalkohol	49,20	0,9943	0,00001-100	0,00001	0,00003
eugenol	13,58	0,9891	0,05-50	0,05	0,15

$R_t$  – retenční čas;  $R^2$  – koeficient determinace; LOD – limit detekce; LOQ – limit kvantifikace

Tabulka 18.: Parametry standardů použité pro kvantifikaci

Sloučenina	Koncentrace [mg·ml <sup>-1</sup> ]	Plocha píku
D-limonen	0,00001	14906769
linalool	0,0001	378069283
β-citral	0,00001	123755477
α-citral	0,00001	186226352
β-citronellol	0,01	4278041257
geraniol	0,01	3616751393
benzylalkohol	0,1	3189311183
eugenol	0,05	6316052613

Tabulka 19.: Koncentrace identifikovaných alergenů v zelených vzorcích

Zelené vzorky [mg·kg <sup>-1</sup> ]					
Alergen	A01	A02	A03	A04	A05
D-limonen	0,20 ± 0,11	1,46 ± 0,85	0,89 ± 0,80	0,40 ± 0,22	0,18 ± 0,05
linalool	0,22 ± 0,030	0,06 ± 0,03	0,37 ± 0,11	0,07 ± 0,03	0,22 ± 0,04
β-citral	0,01 ± 0,00	0,002 ± 0,000	0,01 ± 0,00	0,001 ± 0,000	0,004 ± 0,001
α-citral	0,01 ± 0,00	0,004 ± 0,000	0,02 ± 0,00	0,002 ± 0,000	-
β-citronellol	0,16 ± 0,02	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,01	-	0,004 ± 0,000
geraniol	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,60 ± 0,11	0,05 ± 0,01	-
benzylalkohol	0,22 ± 0,12	2,01 ± 0,53	<b>49,66 ± 0,32</b>	<b>75,56 ± 0,59</b>	<b>76,92 ± 0,23</b>
eugenol	-	-	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,54 ± 0,00

Tabulka 20.: Koncentrace identifikovaných alergenů v oranžových vzorcích

Oranžové vzorky [mg·kg <sup>-1</sup> ]					
Alergen	A01	A02	A03	A04	A05
D-limonen	<b>23,34 ± 0,62</b>	<b>21,78 ± 0,34</b>	<b>28,51 ± 2,75</b>	<b>33,00 ± 8,78</b>	<b>38,51 ± 0,33</b>
linalool	1,49 ± 0,11	0,63 ± 0,05	0,98 ± 0,05	0,90 ± 0,02	0,74 ± 0,01
β-citral	0,04 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00
α-citral	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,07 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,01 ± 0,00
β-citronellol	0,27 ± 0,07	0,09 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,13 ± 0,06	0,07 ± 0,01
geraniol	0,51 ± 0,04	0,18 ± 0,06	0,80 ± 0,04	0,61 ± 0,45	0,22 ± 0,01
benzylalkohol	0,23 ± 0,00	1,24 ± 0,49	<b>42,76 ± 2,50</b>	<b>60,49 ± 8,16</b>	<b>60,52 ± 0,04</b>
eugenol	-	-	-	0,06 ± 0,01	0,56 ± 0,08

V zeleném vzorku A01 bylo identifikováno celkově 7 alergenů, z nichž ani jeden nepřekračoval limitní koncentraci. V oranžovém vzorku A01 bylo celkově identifikováno také 7 alergenů, z nichž překračoval limitní koncentraci pouze D-limonen, který byl ale překročen ve všech oranžových vzorcích. Na obale jsou tyto aromatické látky shrnuty označením "aroma", v našem případě konkrétně jablečném a pomerančovém. Kromě toho je zde ale deklarován i přídavek jablečné šťávy z koncentráту, lze se domnívat, že díky tomu byl použit nižší přídavek jablečného aroma.

V zeleném vzorku A02 bylo identifikováno celkově 7 alergenů, z nichž ani jeden nepřekračoval limitní koncentraci. V oranžovém vzorku A02 bylo identifikováno také



7 alergenů, z nichž překračoval limitní koncentraci pouze D-limonen. Na obale jsou tyto aromatické látky shrnuty označením "aroma". Podobně jako u vzorku A01 je deklarován navíc přídavek ovocné šťávy z koncentrátu (jablko i pomeranč) a ovocného koncentrátu (jablko i pomeranč).

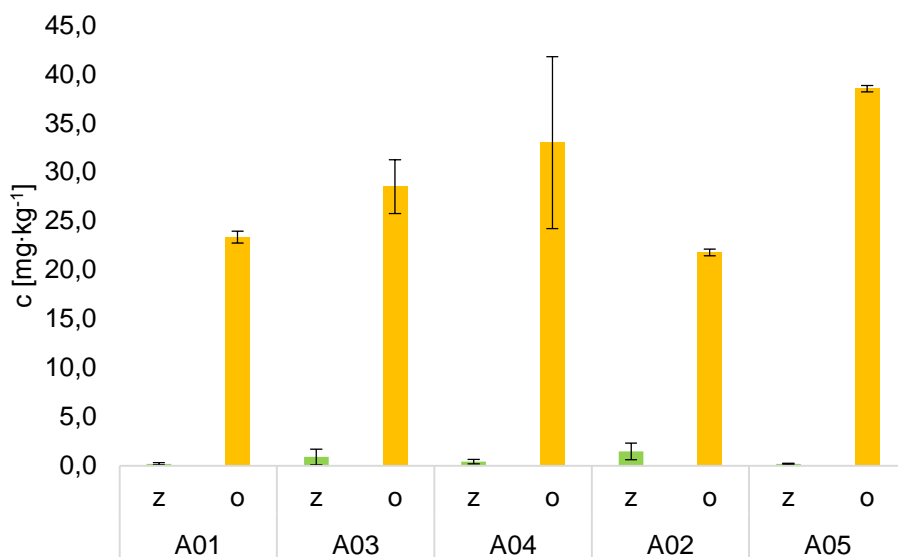
V zeleném vzorku A03 bylo identifikováno celkově 8 alergenů, z nichž překročil limitní koncentraci benzylalkohol (cca 5×). V oranžovém vzorku A03 bylo identifikováno celkově 7 alergenů, z nichž limitní koncentraci překročil opět benzylalkohol a D-limonen. Na obale jsou tyto látky shrnuty označením "aromata".

V zeleném vzorku A04 bylo identifikováno celkově 7 alergenů, z nichž překročil limitní koncentraci benzylalkohol (cca 7,5×). V oranžovém vzorku A04 bylo identifikováno celkově 8 alergenů, z nichž překročil limitní koncentraci D-limonen (cca 3×) a benzylalkohol (cca 6×). Na obale jsou tyto aromatické látky shrnuty označením "aroma".

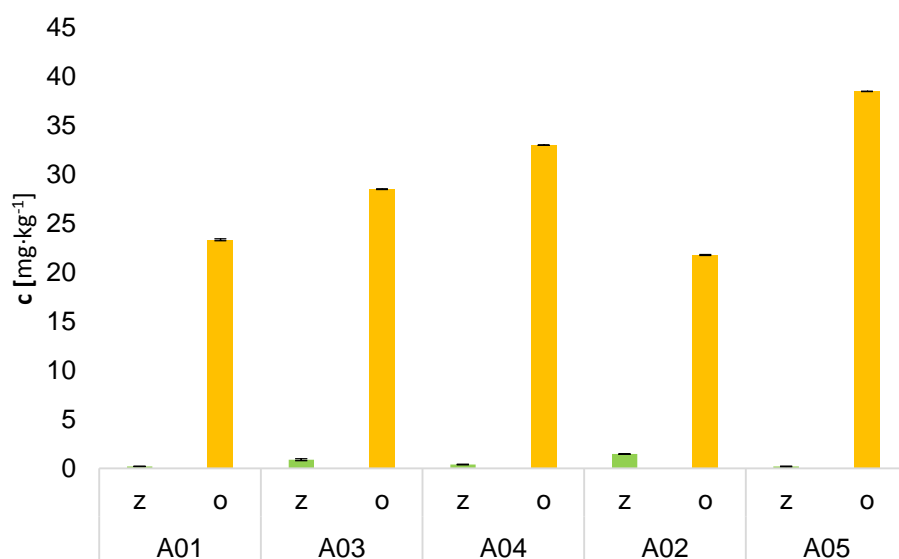
V zeleném vzorku A05 bylo identifikováno celkově 6 alergenů, z nichž limitní koncentraci překročil benzylalkohol (cca 7,5×). V oranžovém vzorku A05 bylo identifikováno celkově 8 alergenů, z nichž limitní koncentraci překročil D-limonen (cca 4×) a benzylalkohol (cca 6×). Na obale jsou tyto látky shrnuty označením "aromata".

Z naměřených dat vyplývá, že nejmenší množství alergenů se vyskytovalo ve vzorcích A01 a A02, pravděpodobně díky výše zmíněnému použití přírodních koncentrátů při jejich výrobě. Různé koncentráty a extrakty plní sice primárně funkci barviv, ale nepochybně obsahují i AAL.

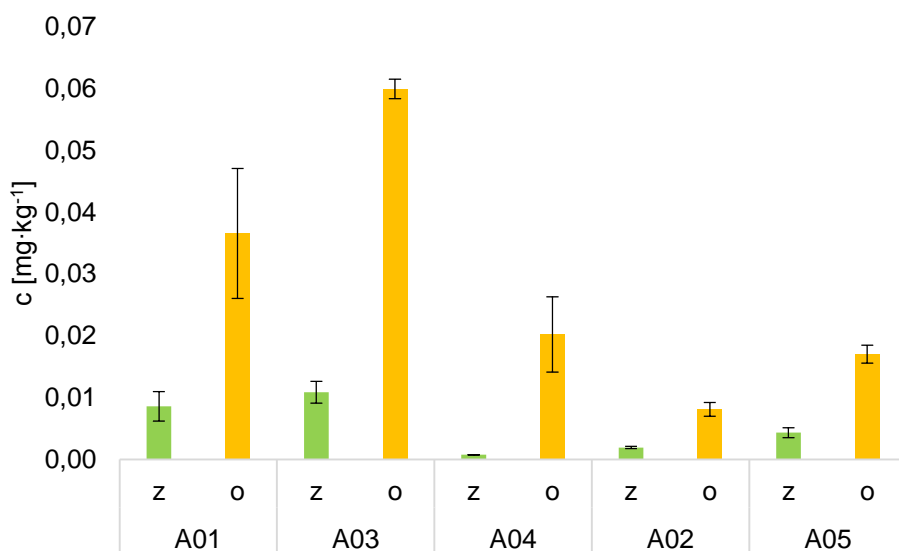
Pro názornost je koncentrace jednotlivých alergenů ve vzorcích porovnávána v Grafech 11–18. U většiny z nich (D-limonen,  $\alpha$ - a  $\beta$ -citral,  $\beta$ -citronellol a geraniol) byly výrazně vyšší koncentrace nalezeny v oranžových vzorcích (pomeranč).



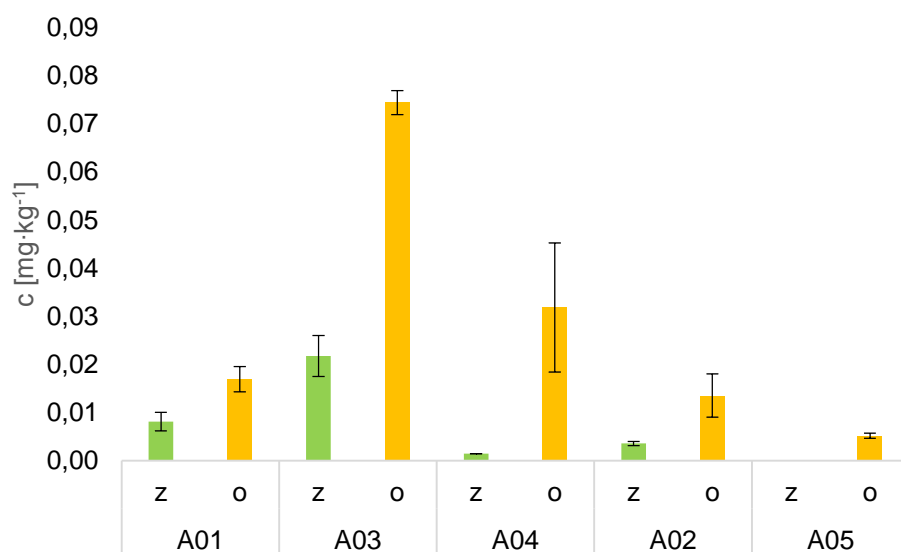
Graf 11.: Koncentrace D-limonenu v jednotlivých vzorcích; z – zelené, o – oranžové



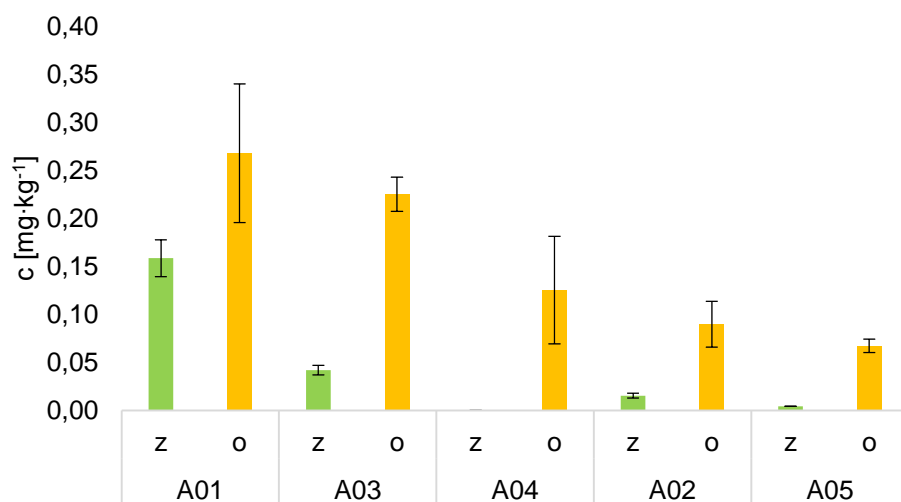
Graf 12.: Koncentrace linaloolu v jednotlivých vzorcích; z – zelené, o – oranžové



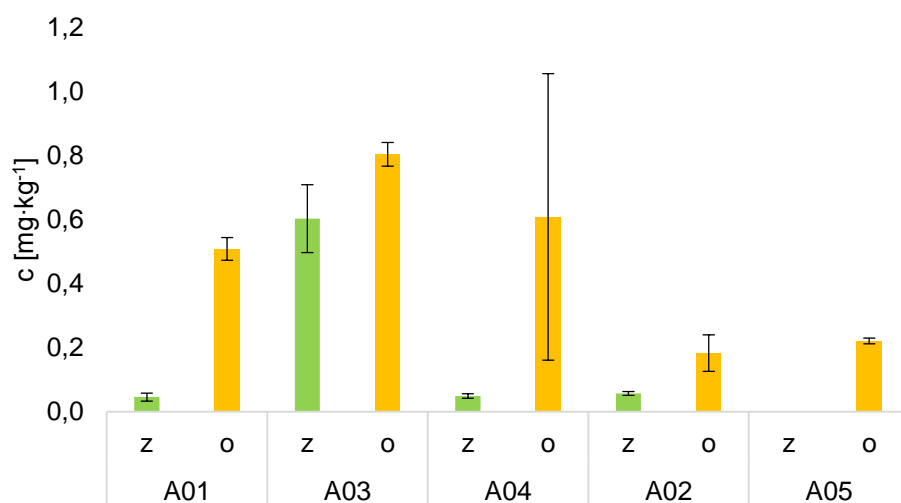
Graf 13.: Koncentrace β-citralu v jednotlivých vzorcích; z – zelené, o – oranžové



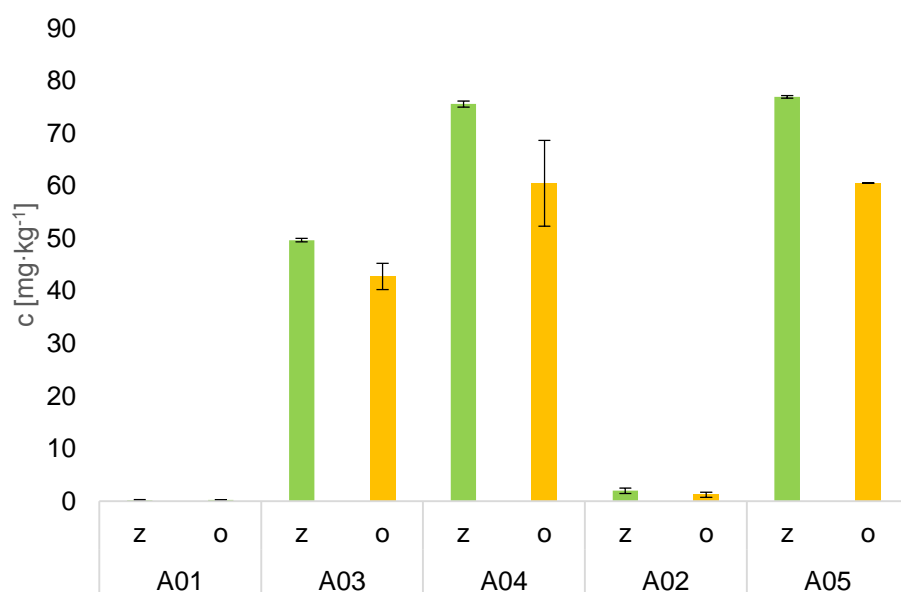
Graf 14.: Koncentrace  $\alpha$ -citralu v jednotlivých vzorcích; z – zelené, o – oranžové



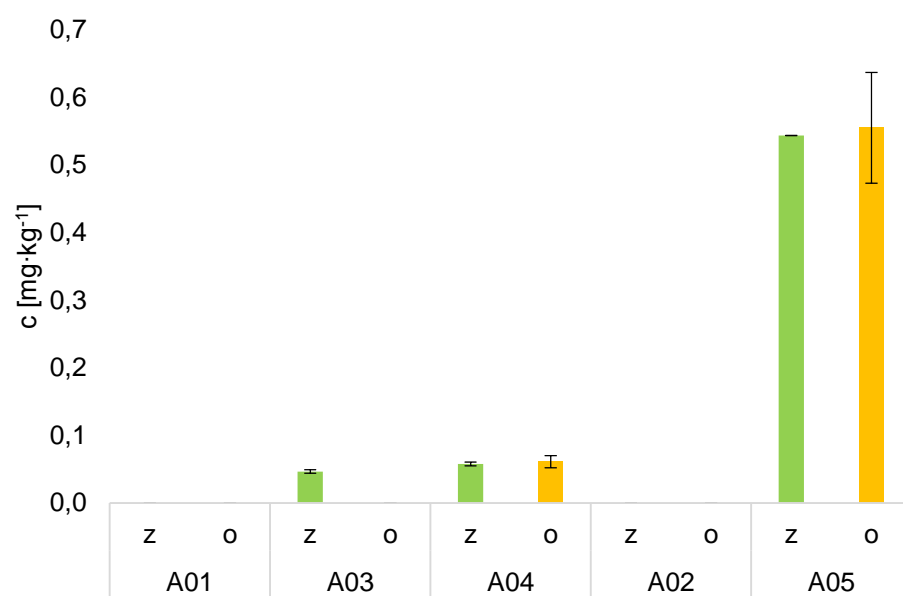
Graf 15.: Koncentrace  $\beta$ -citronellu v jednotlivých vzorcích; z – zelené, o – oranžové



Graf 16.: Koncentrace geraniolu v jednotlivých vzorcích; z – zelené, o – oranžové



Graf 17.: Koncentrace benzylalkoholu v jednotlivých vzorcích; z – zelené, o – oranžové



Graf 18.: Koncentrace eugenolu v jednotlivých vzorcích; z – zelené, o – oranžové

## 5 ZÁVĚR

V dnešní době je řada potravin aromatizována, jedná se zvláště o cukrovinky, limonády, alkoholické nápoje, čaje a mnoho dalších. Potravinářská aromata jsou vyráběna z přírodních materiálů (silice, extrakty, destiláty), ale i z látek přírodně identických a látek vyrobených synteticky. Na obalu jsou tyto látky shrnuty názvem "aroma", pod které ale může spadat jak aroma přírodní, tak i syntetické.

Vonné látky vykazují na lidský organismus řadu blahodárných účinků (potravinářská aditiva, léčiva, farmaceutické výrobky), avšak některé z nich mohou být také silně alergenní.

Cílem této bakalářské práce proto bylo identifikovat těkavé AAL a následně kvantifikovat přítomné alergenní AAL v želé cukrovinkách pěti různých výrobců, běžně dostupných na našem trhu. Pro jejich stanovení byla zvolena metoda HS-SPME-GC/MS.

Protože v české republice zatím není zákon, který by zahrnoval použití a kontrolu obsahu těchto látek v potravinách, byla pro porovnání použita kosmetická legislativa, kde je maximální povolené množství potenciálně alergenních vonných látek v kosmetice, která se z pokožky nesmývá 0,001% tedy 10 mg·kg<sup>-1</sup>.

Celkově bylo ve vzorcích identifikováno 230 těkavých sloučenin, včetně 8 alergenních; z toho 55 alkoholů, 68 esterů, 29 alkenů, 18 aldehydů, 25 ketonů, 2 ethery, 3 epoxidy, 9 karboxylových kyselin a 21 dalších sloučenin, které nebyly zařazeny do žádné z těchto kategorií. Ve všech vzorcích převažovaly alkoholy a estery.

Přestože se pro výrobu používají z velké části stejné suroviny, mezi vzorky byly nalezeny rozdíly v obsahu identifikovaných sloučenin, jak mezi jednotlivými barvami/příchutěmi, tak i u jednotlivých výrobců. Nejvíce identifikovaných sloučenin bylo ve vzorku A03, nejméně ve vzorku A01. V oranžových vzorcích (pomeranč) bylo identifikováno výrazně více sloučenin, než v zelených (jablko).

Ve vzorcích bylo identifikováno celkem 8 alergenních AAL. Nejčastěji se vyskytujícím alergenem byly D-limonen, linalool,  $\beta$ -citral a benzylalkohol. Dále byly ale také nalezeny  $\beta$ -citronellol,  $\alpha$ -citral, *cis*- a *trans*-geraniol a eugenol.

Koncentrace D-limonenu a benzylalkoholu výrazně překračovala námi zvolený limit u vzorků A03, A04 a A05; pouze u zelených vzorků A01 a A02 tento limit nebyl překročen vůbec.

Obecně vzorky A04 a A05 obsahovaly nejvyšší koncentrace identifikovaných alergenních látek. Naopak nejmenší množství alergenů bylo nalezeno ve vzorcích A01 a A02, pravděpodobně díky použití přírodních ovocných koncentrátů (jablko, pomeranč) při jejich výrobě. Díky tomu mohl být použit nižší přídavek (možná syntetických) aromat.

Na tuto práci budou navazovat další experimenty zkoumající obdobné vzorky, s cílem zjistit rozdíly v obsahu AAL a s tím související senzorické kvalitě cukrovinek dostupných na našem trhu.

## 6 SEZNAM CITOVANÝCH ZDROJŮ

- [1] ČOPÍKOVÁ, Jana. *Technologie čokolády a cukrovinek*. Praha: VŠCHT, 1999. ISBN 80-708-0365-7.
- [2] DRDÁK, Milan, Július STUDNICKÝ, Eva MÓROVÁ a Jolana KARKOVIČOVÁ. *Základy potravinářských technologií: spracovanie rastlinných a živočišných surovín cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín*. Bratislava: Malé centrum, 1996. ISBN 8096706411.
- [3] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin I*. Praha: VŠCHT, 2002. ISBN 8070805099.
- [4] SKOUPIL, Jan. *Suroviny a polotovary pro cukrářskou výrobu*. Brno: Společenstvo cukrářů České republiky, 2005. ISBN 802396061X.
- [5] KOCOVAR, Markéta a Luděk ŠÍDLO. Diabetes mellitus - hrozba pro jednotlivce i pro celou společnost. *Demografie* [online]. 2014, **56**(2), 160-171 [cit. 2017-02-15]. ISSN 1805-2991. Dostupné z: [https://www.czso.cz/documents/10180/20555383/130053\\_14-02.pdf/](https://www.czso.cz/documents/10180/20555383/130053_14-02.pdf/)
- [6] KLESCHT, Vladimír, Iva HRNČIŘÍKOVÁ a Lucie MANDELOVÁ. *Éčka v potravinách*. Brno: Computer Press, 2006. Zdraví pro každého (Computer Press). ISBN 8025112926.
- [7] BABIČKA, Luboš. *Přídavné látky v potravinách: publikace České technologické platformy pro potraviny*. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, 2012. ISBN 9788090509634.
- [8] PLEVOVÁ, Petra. *Monitoring alergenních vonných látek v potravinách*. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická, 2014. Vedoucí práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [9] RAČICKÁ, Eva. Náhradní sladidla, jejich místo v současné diabetologii. *Interní medicína pro praxi*. 2012, **14**(8–9), 331–335.
- [10] ČOPÍKOVÁ, J., J. MORAVCOVÁ, O. LAPČÍK, L. OPLETAL a P. DRAŠAR. Přírodní látky a jejich deriváty chuti chladivé. *Chemické Listy* [online]. 1112, 105(12), 938-942 [cit. 2017-02-17]. ISSN 00092770.
- [11] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 9788086659169.
- [12] TREPKOVÁ, Emilie a František VONÁŠEK. *Vůně a parfémy: tajemství přitažlivosti*. [1. vyd.]. Praha: MAXDORF, 1997. ISBN 8085800489.
- [13] VRBOVÁ, Tereza. *Víme, co jíme?, aneb: Průvodce "Éčky" v potravinách*. Praha: EcoHouse, 2001. ISBN 8023875043
- [14] Starch Mogul. In: *Union Standard Equipment* [online]. USA, 2017 [cit. 2017-02-23]. Dostupné z: <http://www.unionmachinery.com/products/starch-mogul.html>
- [15] MIKULÍKOVÁ, Z. *Charakterizace kolagenu izolovaného z různých živočišných tkání*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 108 s. Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.

- [16] PŮLPÁNOVÁ, Alena. *Cukrářská technologie*. Vyd. 2., (1. vyd. v nakl. Radek Runštuk-R plus). Hradec Králové: R plus, 2001. ISBN 8090249221.
- [17] OBRDLÍKOVÁ, B. *Stanovení vybraných vonných látek v potravinách a kosmetických výrobcích*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 137 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [18] JELÍNKOVÁ, M. *Stanovení vonných látek rostlinného původu v potravinách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 79 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [19] KRS, Václav. *Materiály I: pro 1. a 2. ročník oboru Kosmetička*. Praha: INFORMATORIUM, 2001, 135 s. ISBN 80-86073-73-4.
- [20] MOKÁŇOVÁ, Radka. *Analýza vonných látek v kosmetických prostředcích metodou plynové chromatografie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 92 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Jana Zemanová, Ph.D.
- [21] Předpis č.260/2012 Sb., o zrušení vyhlášky č. 447/2004 Sb., o požadavcích na množství a druhy látek určených k aromatizaci potravin, podmínky jejich použití, požadavky na jejich zdravotní nezávadnost a podmínky použití chininu a kofeinu. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2012-260>
- [22] Nařízení evropského parlamentu a rady (ES) č. 1223/2009: ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích. Úřední věstník Evropské unie, [online] 22. 12. 2009 [cit. 2017-02-25]. Dostupné z: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:342:0059:0209:cs:PDF>>
- [23] Epikutánní testy. KRATOCHVÍL, F. Epikutánní testy: Abecední seznam ICDRG autorizovaných alergenů [online]. 2007 [cit. 2017-02-25]. Dostupné z: <<http://www.epitesty.cz/default.asp?inc=sez&filtr=A>>.
- [24] TRUCHLIŃSKI, Jerzy, Iwona SEMBRATOWICZ, Małgorzata GORZEL a Kiełtyka-Dadasiewicz ANNA. Allergenic potential of cosmetic ingredients. *Archives of Physiotherapy & Global Researches* [online]. 2015, 1(19), 7-15 [cit. 2017-05-11]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/285137540\\_Allergenic\\_potential\\_of\\_cosmetic\\_ingredients](https://www.researchgate.net/publication/285137540_Allergenic_potential_of_cosmetic_ingredients)
- [25] GREIFENTHALOVA, I. *Stanovení vybraných vonných látek v potravinách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. 81 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [26] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 8086369072.
- [27] VOLKA, Karel. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 8070802278.
- [28] Gas chromatography. In: *Linde HiQ* [online]. Poslední úpravy 2017 [cit. 2017-02-21]. Dostupné z: [http://hiq.linde-gas.com/en/analytical\\_methods/gas\\_chromatography/index.html](http://hiq.linde-gas.com/en/analytical_methods/gas_chromatography/index.html)



- [29] BERDIÉ RABANAQUE, Lourdes, Irene FERNÁNDEZ VIDAL a Pilar TEIXIDOR CASAMITJANA. UNIVERSITAT DE BARCELONA. *Gas chromatography - Mass spectrometry*. Centres Científics i Tecnològics. Universitat de Barcelona, 2012.
- [30] CHARVÁTOVÁ, M. Multimediální pomůcka pro předmět Chemie potravních řetězců: Využití metody SPME při analýze látek pocházejících z polymerů kontaminujících potravní řetězce [online]. 26. 6. 2012 [cit. 2017-02-25]. Dostupné z: <<http://soubory.vfu.cz/fvhe/metoda-spme/>>
- [31] PROCHÁZKOVÁ, Dana. Mikroextrakce na tuhou fázi a stanovení obsahu analytů. *Chemické listy*. 2002, **96**, 827-852. ISSN 1213-7103.
- [32] PLEVOVÁ, P. *Přítomnost alergenních vonných látek v nečokoládových cukrovinkách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 69 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D..
- [33] Sanchez-Palomo, E., Garcia-Carpintero, E.G., Alonso-Villegas, R., Gonzalez-Vinas, M.A., 2010: Characterization of aroma compounds of Verdejo white wines from the La Mancha region by odour activity values. *Flavour and Fragrance Journal*, 25, 6: 456-462. ISSN: 0882-5734.
- [34] Vítová, Eva. *Hodnocení tvorby těkavých senzoricky účinných látek mikrobiálních metabolitů a jejich charakterizace*. Brno, 2003. 107 s. Disertační práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně. Školitel: prof. Ing. Pavel Březina, CSc.
- [35] Sádecká, J. – Polovka, M. – Kolek, E. – Belajová, E. – Tobolková, B. – Daško, L. – Durec, J.: Orange juice with pulp: Impact of pasteurization and storage on flavour, polyphenols, ascorbic acid and antioxidant activity. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53, 2014, pp. 371-388.
- [36] PREEDY, Victor. *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. London: Nikki Levy, 2016. ISBN 9780124166417.
- [37] The PubChem Project. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [online]. 2005 [cit. 2017-04-30]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [38] BACCOURI, B, S TEMIME, E CAMPEOL, P CIONI, D DAOUD a M ZARROUK. *Application of solid-phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils from five new cultivars*. Food Chemistry [online]. 2007, 102(3), 850-856 [cit. 2017-04-30]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.06.012. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814606004936>
- [39] LAN PHI, Nguyen Thi, Chieko NISHIYAMA, Hyang-Sook (2,4CHOI a Masayoshi SAWAMURA. Evaluation of Characteristic Aroma Compounds of Citrus natsudaikai Hayata (Natsudaikai) Cold-Pressed Peel Oil. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* [online]. Japan Society for Bioscience, Biotechnology, and Agrochemistry, 2006, **70**(8), 1832-1838 [cit. 2017-05-10]. DOI: 10.1271/bbb.50705. ISSN 09168451. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/doi/pdf/10.1271/bbb.50705?needAccess=true>

- [40] BURDOCK, George A. a Giovanni FENAROLI. *Fenaroli's handbook of flavor ingredients*. 5. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2005. ISBN 9780849330346.
- [41] TERANISHI, Roy, Emily L. WICK a Irwin. HORNSTEIN. *Flavor chemistry: thirty years of progress*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 1999. ISBN 9780306461996.
- [42] KUWAHARA, Yasumasa, Yayoi ICHIKI, Masashi MORITA a Yasuhisa ASANO. (2-Nitroethyl)benzene: a major flower scent from the Japanese loquat *Eriobotrya japonica* [Rosales: Rosaceae]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* [online]. 2014, 78(8), 1320-1323 [cit. 2017-04-30]. DOI: 10.1080/09168451.2014.921558. ISSN 09168451. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09168451.2014.921558>
- [43] DUGO, Giovanni. a Luigi. MONDELLO. *Citrus oils: composition, advanced analytical techniques, contaminants, and biological activity*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2011. Medicinal and aromatic plants--industrial profiles, v. 49. ISBN 9781439800287.
- [44] BUETTNER, Andrea. *Springer handbook of odor*. Germany: Springer, 2017. ISBN 9783319269306.
- [45] ELVERS, Barbara. *Ullmann's food and feed*. W: Weinheim, 2017. ISBN 978-3-527-33990-7.
- [46] BURDOCK, George A. *Fenaroli's handbook of flavor ingredients*. 4. Boca Raton: CRC Press, 2002. ISBN 9780849309465.
- [47] GOLPARVAR, Ahmad Reza, Amin HADIPANAH a Ali Mehras MEHRABI. *Diversity in chemical composition from two ecotypes of (Mentha Longifolia L.) and (Mentha spicata L. in Iran climatic conditions*. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* [online]. 2015, 6(4), 26-33 [cit. 2017-05-02]. ISSN 2222-3045. Dostupné z: <http://www.innspub.net/wp-content/uploads/2015/04/JBES-Vol6No4-p26-33.pdf>
- [48] SAWAMURA, Masayoshi. *Citrus essential oils: flavor and fragrance*. 1. Hoboken, N.J.: Wiley, 2010. ISBN 9780470372180.
- [49] HUI, Y. H. *Handbook of fruit and vegetable flavors*. Hoboken, N.J.: Wiley, 2010. ISBN 9780470227213.
- [50] *Food chemicals codex*. 7. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention, 2010. ISBN 9781889788869.
- [51] BRYANT, R.J. a A.M. MCCLUNG. Volatile profiles of aromatic and non-aromatic rice cultivars using SPME/GC-MS. *Food Chemistry* [online]. Elsevier, 2011, 124(2), 501-513 [cit. 2017-05-02]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.06.061. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://naldc.nal.usda.gov/download/45769/PDF>
- [52] CSERHÁTI, Tibor. *Chromatography of aroma compounds and fragrances*. Berlin: Springer, 2010. ISBN 9783642016554.
- [53] *Compendium of food additive specifications*. 52. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2005. ISBN 9251053553.
- [54] FUJITA, Shin-Ichi a Yasuji FUJITA. Studies on the Essential Oils of the Genus *Mentha*. *Agricultural and Biological Chemistry* [online]. 1970, 34(10), 1511-1515

- [cit. 2017-05-02]. DOI: 10.1080/00021369.1970.10859799. ISSN 00021369. Dostupné z: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb1961/34/10/34\\_10\\_1511/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb1961/34/10/34_10_1511/_pdf)
- [55] JIROVETZ, Leopold, Gerhard BUCHBAUER, Martin Benoit NGASSOUM a Margit GEISLER. Aroma compound analysis of Piper nigrum and Piper guineense essential oils from Cameroon using solid-phase microextraction-gas chromatography, solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and olfactometry. *Journal of chromatography A* [online]. 2002, 976(1-2), 265-275 [cit. 2017-05-02]. DOI: 10.1016/S0021-9673(02)00376-X. ISSN 00219673. Dostupné z: [http://www.jonnsaromatherapy.com/pdf/GC-MS\\_Piper\\_nigrum\\_2002\\_01.pdf](http://www.jonnsaromatherapy.com/pdf/GC-MS_Piper_nigrum_2002_01.pdf)
- [56] Frank, D.C., Owen, C.M., Patterson, J. Solid phase microextraction (SPME) combined with gas-chromatography and olfactometry-mass spectrometry for characterization of cheese aroma compounds. *Food Science and Technology-Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 2004, Vol. 37, No. 2, pp. 139-154. ISSN 0023-6438. DOI: 10.1016/S0023-6438(03)00144-0.
- [57] CEJPEK, Karel. *Vonné a chuťové složky sladů*. Chemické listy [online]. 2014, 108(5), 426-435 [cit. 2017-05-02]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2014\\_05\\_426-435.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2014_05_426-435.pdf)
- [58] LIU, Cuihua, Fuhua YAN, Huijun GAO, Min HE, Zhuang WANG, Yunjiang CHENG, Xiuxin DENG a Juan XU. Features of citrus terpenoid production as revealed by carotenoid, limonoid and aroma profiles of two pummelos (*Citrus maxima*) with different flesh color. *Science of food and agriculture* [online]. 2014, 95(1), 111-119 [cit. 2017-05-02]. DOI: 10.1002/jsfa.6689. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.6689/full>
- [59] *Compendium of food additive specifications: combined specifications from 1st through the 37th meetings, 1956-1990*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1992. FAO food and nutrition paper, 52. ISBN 9251033757.
- [60] BURDOCK, George A. *Fenaroli's handbook of flavor ingredients*. 6. Boca Raton: CRC Press, 2010. ISBN 9781420090772.
- [61] TUCKER, Arthur O., Thomas DEBAGGIO a Francesco. DEBAGGIO. *The encyclopedia of herbs: a comprehensive reference to herbs of flavor and fragrance*. Portland: Timber Press, 2009. ISBN 0881929948.
- [62] Hempfling, K., Fastowski, O., Kopp, M., Nikfardjam, M.P., Engel, K.H. Analysis and Sensory Evaluation of Gooseberry (*Ribes uva crispa* L.) *Volatiles*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013, Vol. 61, No. 26, pp. 6240-6249. ISSN 0021-8561. DOI: 10.1021/jf401310v.
- [63] THIS, Hervé. *Note-by-note cooking: the future of food*. New York: Columbia University Press, 2014. ISBN 9780231164863.
- [64] FLAMENT, Ivon. a Yvonne BESSIÈRE-THOMAS. *Coffee flavor chemistry*. New York: Wiley, 2002. ISBN 9780471720386.
- [65] DE ROVIRA, Dolf A. *Dictionary of flavors*. 3. Hoboken NJ: Willey-Blackwell, 2017. ISBN 9781118856413.

- [66] CONNOLLY, J. D. a R. A. HILL. *Dictionary of terpenoids*. New York: Chapman & Hall, 1991. ISBN 041225770x.
- [67] SENA FILHO, José G, Haroudo S XAVIER, José M BARBOSA FILHO a Jennifer M DURINGER. A Chemical Marker Proposal for the Lantana genus: Composition of the Essential Oils from the Leaves of Lantana radula and L. canescens. *Natural Product Communications* [online]. 2010, **5**(4), 635-640 [cit. 2017-04-30]. ISSN 1555-9475. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/43532238\\_A\\_Chemical\\_Marker\\_Proposal\\_for\\_the\\_Lantana\\_genus\\_Composition\\_of\\_the\\_Essential\\_Oils\\_from\\_the\\_Leaves\\_of\\_Lantana\\_radula\\_and\\_L\\_canescens](https://www.researchgate.net/publication/43532238_A_Chemical_Marker_Proposal_for_the_Lantana_genus_Composition_of_the_Essential_Oils_from_the_Leaves_of_Lantana_radula_and_L_canescens)
- [68] CHARALAMBOUS, George. *Analysis of foods and beverages: headspace techniques*. New York: Academic Press, 1978. ISBN 9780121690502.
- [69] LEWIS, Richard J. *Food additives handbook*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. ISBN 0442205082.
- [70] MARSILI, Ray. *Flavor, fragrance, and odor analysis*. 2. Boca Raton, FL: CRC Press, 2012. ISBN 9781439846735.
- [71] PINO, Jorge A., Rolando MARBOT a Carlos VÁZQUEZ. Characterization of Volatiles in Strawberry Guava ( Psidium cattleianum Sabine) Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2001, 49(12), 5883-5887 [cit. 2017-05-01]. DOI: 10.1021/jf010414r. ISSN 00218561. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf010414r>
- [72] SURBURG, Horst a Johannes PANTEN. *Common Fragrance and Flavor Materials: preparation, properties and uses*. 6. Weinheim: Wiley, 2016. ISBN 978-3-527-33160-4.
- [73] TOLDRÁ, Fidel. *Handbook of fermented meat and poultry*. 2. USA: Wiley Blackwell, 2015. ISBN 9781118522691.
- [74] ALASALVAR, Cesarettin a Fereidoon SHAHIDI. *Tree nuts: composition, phytochemicals, and health effects*. Boca Raton: CRC Press, 2009. ISBN 9780849337352.
- [75] JUN, Yonjin, Sang LEE, Hyun JU, Hong LEE, Hyung-Kyoon CHOI, Gyeong JO a Young-Suk KIM. Comparison of the Profile and Composition of Volatiles in Coniferous Needles According to Extraction Methods. *Molecules* [online]. 2016, 21(3), 363- [cit. 2017-05-01]. DOI: 10.3390/molecules21030363. ISSN 14203049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/21/3/363>
- [76] BELITZ, H.-D., W. GROSCH a P. SCHIEBERLE. *Food chemistry*. 4. Berlin: Springer, 2009. ISBN 9783540699347.
- [77] SHEFTEL, Victor O. *Handbook of toxic properties of monomers and additives*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. ISBN 9781566700757.
- [78] MIYAZAWA, M. a H. KAMEOKA. Volatile flavor components of Puerariae radix (Pueraria lobata Ohwi). *Agricultural and Biological Chemistry* [online]. 8804, 52(4), 1053-1055 [cit. 2017-05-02]. ISSN 00021369. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00021369.1988.10868765>

## 7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

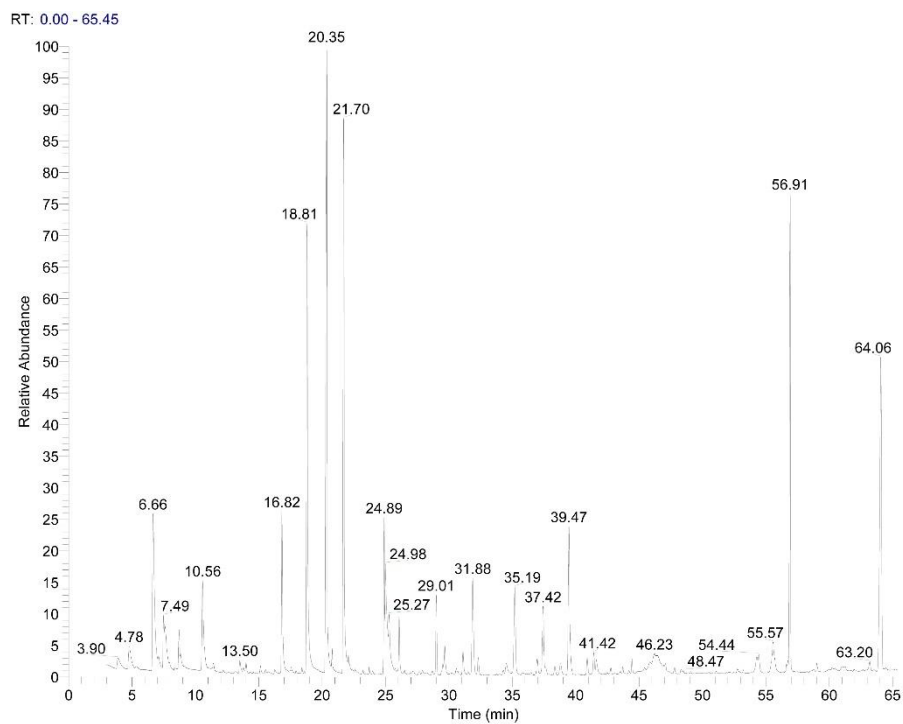
AAL	Aromaticky aktivní látky
DI-SPME	Mikroextrakce pevnou fází ze vzorku
GC	Plynová chromatografie
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie
HS-SPME	Mikroextrakce pevnou fází z prostoru nad vzorkem (headspace)
HS	Headspace
IR	Infračervená spektrometrie
LC	Kapalinová chromatografie
LOD	Mez detekce
LOQ	Mez stanovitelnosti
MS	Hmotnostní spektrometrie
NMR	Nukleární magnetická rezonance
SPME	Mikroextrakce pevnou fází
TLC	Tenkovrstvá chromatografie

## 8 SEZNAM PŘÍLOH

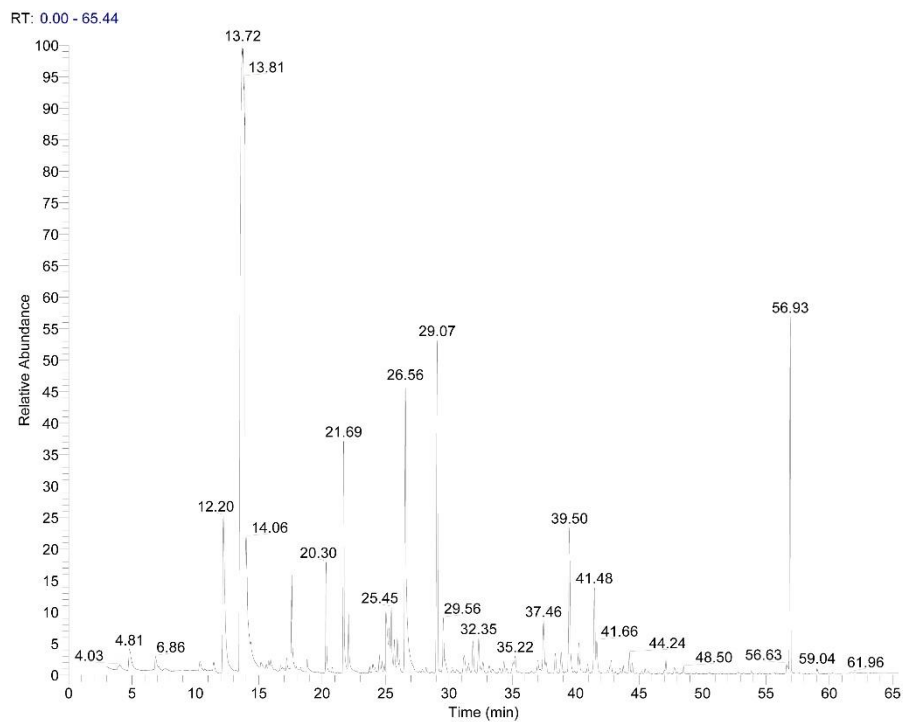
Příloha 1	Chromatogram těkavých látek ve vzorku A01 zeleném
Příloha 2	Chromatogram těkavých látek ve vzorku A01 oranžovém
Příloha 3	Chromatogram těkavých látek ve vzorku A02 zeleném
Příloha 4	Chromatogram těkavých látek ve vzorku A02 oranžovém
Příloha 5	Chromatogram těkavých látek ve vzorku A03 zeleném
Příloha 6	Chromatogram těkavých látek ve vzorku A03 oranžovém
Příloha 7	Chromatogram těkavých látek ve vzorku A04 zeleném
Příloha 8	Chromatogram těkavých látek ve vzorku A04 oranžovém
Příloha 9	Chromatogram těkavých látek ve vzorku A05 zeleném
Příloha 10	Chromatogram těkavých látek ve vzorku A05 oranžovém

## 9 PŘÍLOHY

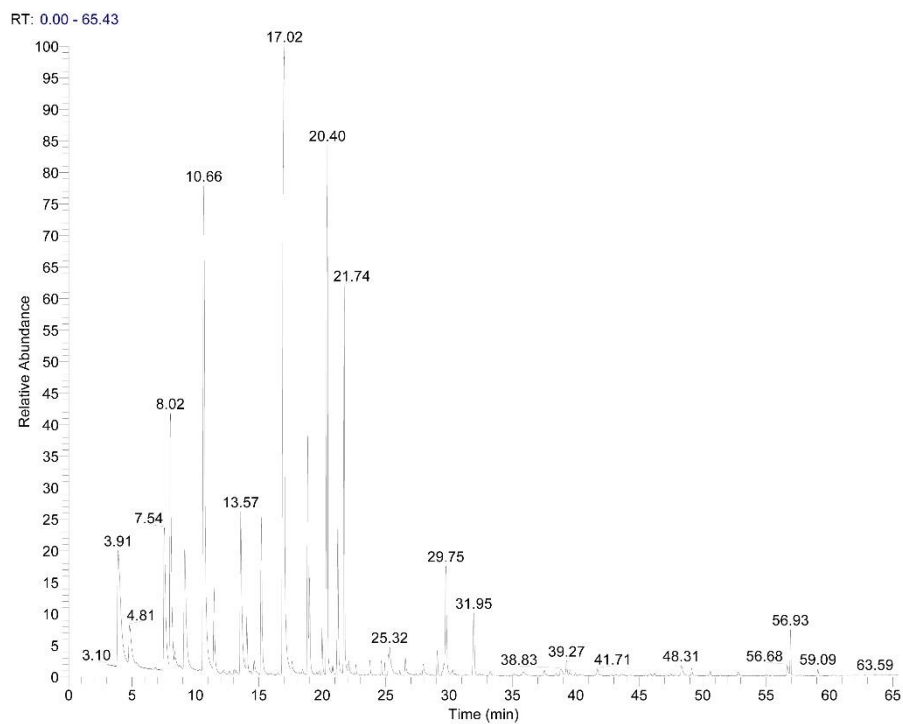
*Příloha 1.: Chromatogram těkavých látek ve vzorku A01 zeleném/jablečném*



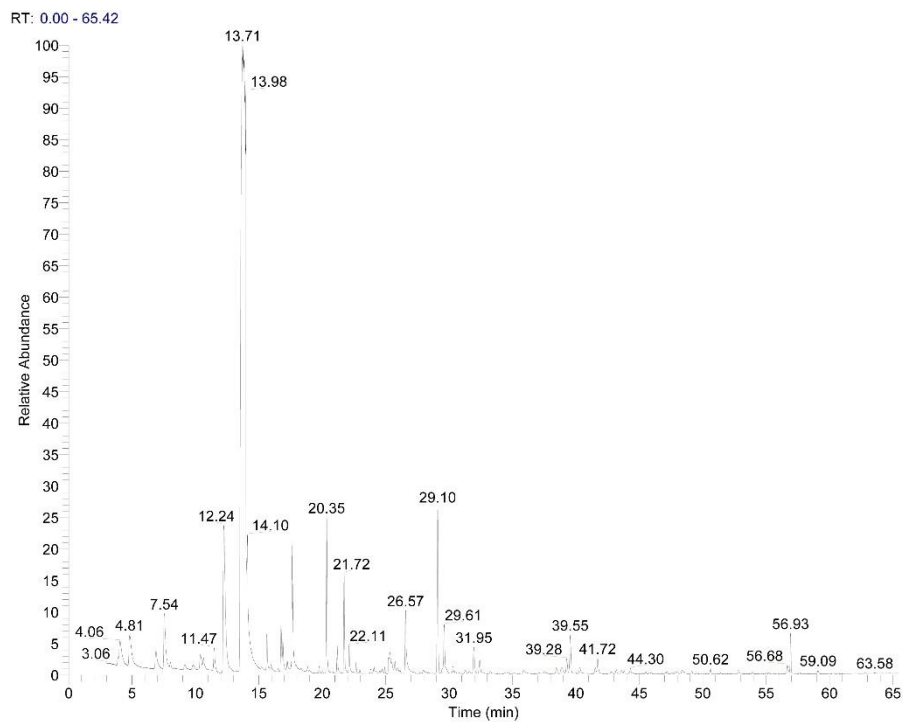
*Příloha 2.: Chromatogram těkavých látek ve vzorku A01 oranžovém/pomerančovém*



*Příloha 3.: Chromatogram těkavých látek ve vzorku A02 zeleném/jablečném*

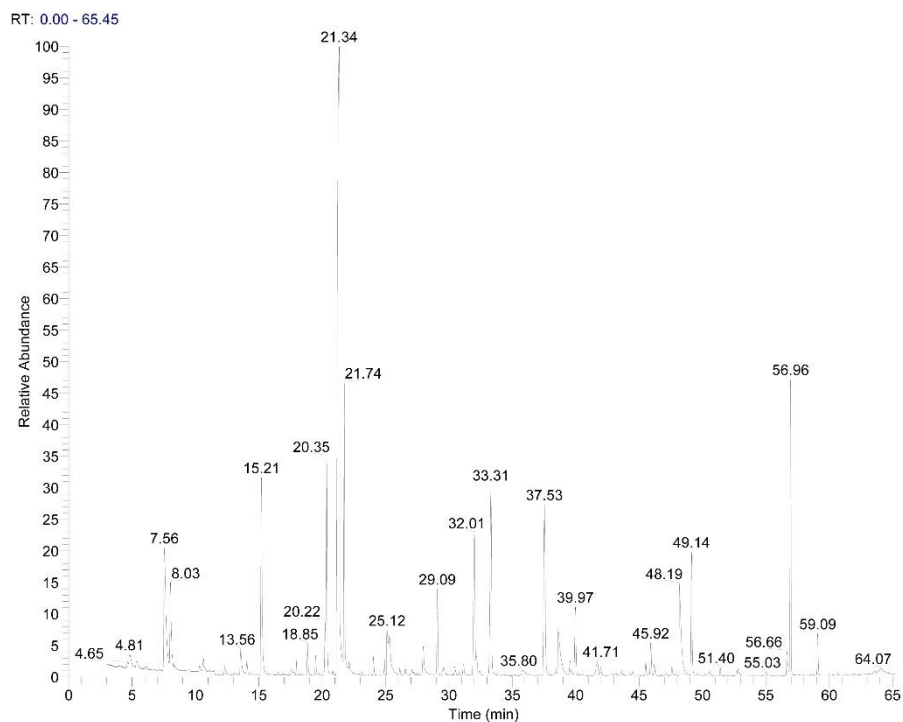


*Příloha 4.: Chromatogram těkavých látek ve vzorku A02 oranžovém/pomerančovém*

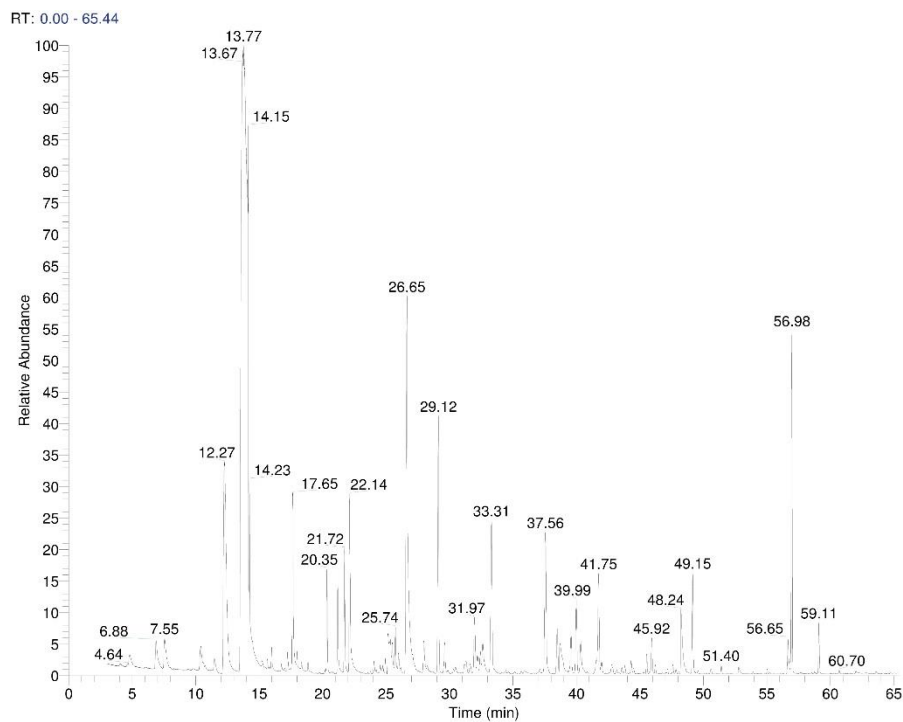




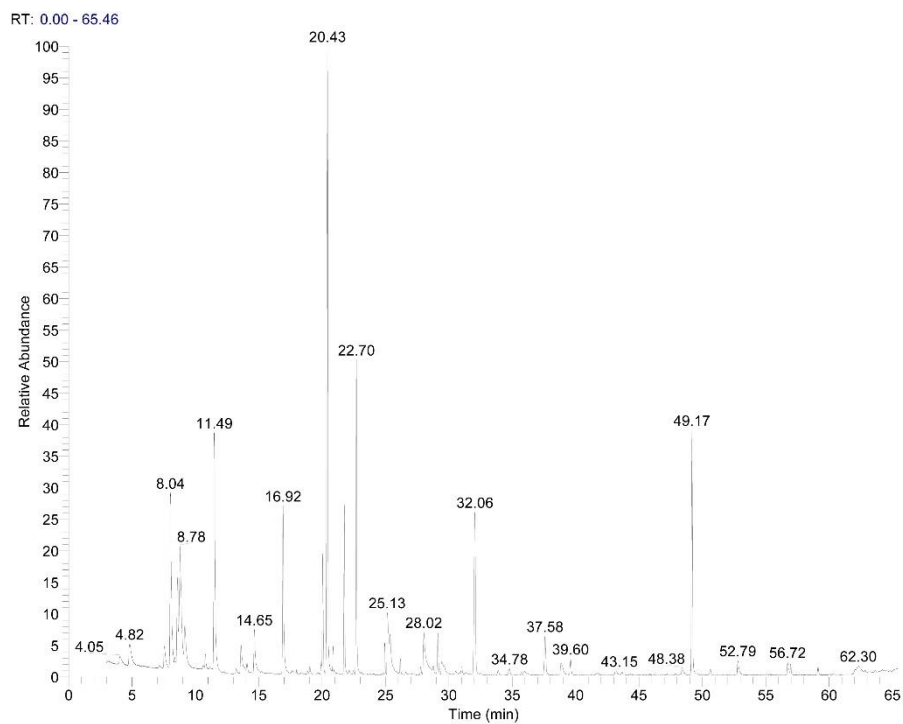
*Příloha 5.: Chromatogram těkavých látek ve vzorku A03 zeleném/jablečném*



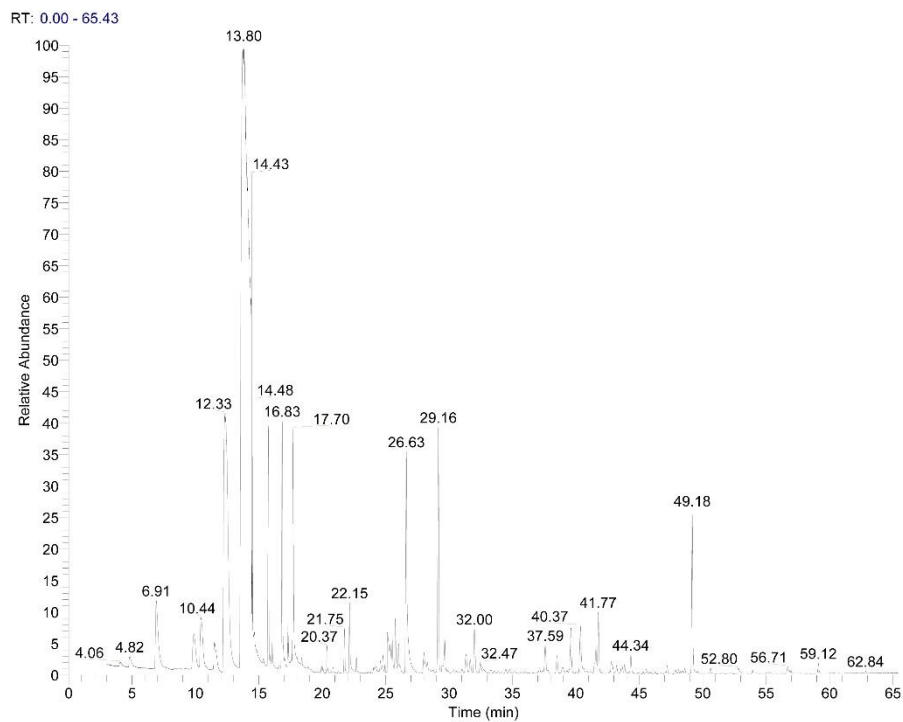
*Příloha 6.: Chromatogram těkavých látek ve vzorku A03 oranžovém/pomerančovém*



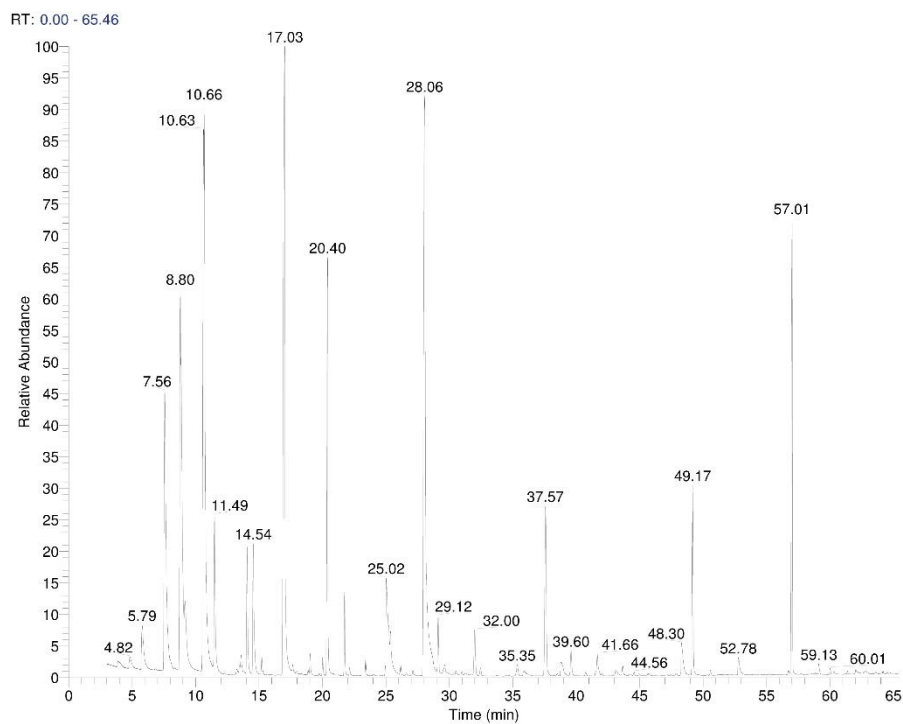
*Příloha 7.: Chromatogram těkavých látek ve vzorku A04 zeleném/jablečném*



*Příloha 8.: Chromatogram těkavých látek ve vzorku A04 oranžovém/pomerančovém*



*Příloha 9.: Chromatogram těkavých látek ve vzorku A05 zeleném/jablečném*



*Příloha 10.: Chromatogram těkavých látek ve vzorku A05 oranžovém/pomerančovém*

